Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY LIBRARY
OCT 27 1930

Labinfektionspilze

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Walter Schwarz

cand. pharm.

aus Stuttgart

Universitätsverlag von Robert Noske in Borna-Leipzig

1929

Rektoratsjahr 1928/29

Referent: Professor Dr. Henneberg

Korreferent: Professor Dr. Tischler

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Januar 1929

Zum Druck genehmigt: Kiel, 12. Januar 1929

z. Zt. Dekan: Professor Dr. Tischler

Kiel, den 12. Januar 1929

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153521_0011

Inhalt.

Seite

Einleitung.

Lab, Vorkommen und Eigenschaften . . . 1

A. Labinfektionspilze 3
1. Isolierungsmethodik 3
2. Besprechung des Ausgangsmaterials 4
3. Untersuchungen der Präparate auf Gasbildner 6
4. Isolierungsergebnisse 6
5. Morphologische Eigenschaften der Sporenbildner 7
a) Federstrich 8
b) Bouillonkulturen 8
c) Wachstum auf Agar (Plattenkultur) 9
d) Schrägröhrchen 10
e) Gelatinestich 11
f) Kartoffelkulturen 12
g) Mohrrübenkulturen 12
h) Anaërobes Wachstum 12
i) Indolprüfung 13
k) Prüfung auf Schwefelwasserstoffbildung 13
l) Nitratreduktion 13
m) Feststellung der Lebensfähigkeit 13
1. bei verschiedenem Säuregrade (P_h-Konzentration) 13
2. bei verschiedenem Prozentgehalt an Kochsalz 13
6. Morphologische Eigenschaften der Hefen 14
7. Untersuchung der Kulturen in den für die Milchwirtschaft wichtigen Substraten 15
a) 1. Milch (Optimaltemperatur) 15
a) 2. Milch (bei verschiedener Temperatur analog der Käsebereitung) . 16
b) Formoltitration 16
c) Kaseïnabbau 17
d) Kultur auf Labkäse (für Sporenbildner und Hefen) 18
e) Kultur auf Quarkkäse (für Hefen) 19
f) Fettspaltung 19
8. Herstellung von Labkäse 19

B. Labherstellung 20
I. Kunstlab 20
1. Ausgangsmaterial 21
2. Herstellung von Pulverlab 21
3. Beschaffenheit, Stärke, Keimzahl und Art der Keime des fertigen Präparates 22

Seite

4. Mikroflora im Labmagen 22
a) Hefen 22
b) Schimmelpilze 23
c) Sarzinen 23
d) Fluoreszenten 23
e) Milchsäurebakterien 23
f) Sporenbildner 24
g) Coli aërogenes-Gruppe 24
5. Vergleichende Betrachtungen der Mikroben aus dem Lab mit der Mikroflora des Labmagens 25
6. Herstellung von flüssigem Lab 25
II. Naturlab 26
1. Ausgangsmaterial 26
2. „Schweizer Naturlab“ 26
3. Beschreibung der Milchsäurebakterien aus dem Naturlab 28
C. Labsterilisierung 32
1. Einfluß von Licht 33
2. Einfluß von Feuchtigkeit 33
3. Einfluß von Wärme 33
4. Einfluß von Chemikalien 34
5. Filtrationsversuche 35
6. Dialysierversuche 35

Schlußwort.

Bedeutung für die Milchwirtschaft 38

Literatur 45

Lab, Vorkommen und Eigenschaften.

Die Gewinnung des Käsestoffs aus der Milch geschieht entweder durch Zusatz von Lab zur süßen Milch oder durch Anwendung von Säure. Da bei der Herstellung vieler Käsesorten Lab angewandt wird, und die Labkäse für die menschliche Ernährung von größter Bedeutung sind, verdient dieser Stoff besondere Beachtung.

Das Lab ist ein Enzym(-Ferment). Über die chemische Zusammensetzung dieses Labenzyms ist so gut wie nichts bekannt, da bisher noch kein Enzym in reinem Zustande dargestellt werden konnte.

Es findet sich in größter Menge im Labmagen des Kalbes, des Schafes und namentlich des nüchternen oder säugenden Tieres. Pawslowsky und Zaykowsky (25) stellten fest, daß das Labenzym bei Kälbern schon vor der ersten Nahrungsaufnahme im Magen vorhanden ist. Die Menge des Enzyms wächst mit der Aufnahme von Milch. Es wird im Magen durch die Zellen der Magendrüsen abgesondert. Nebenbei bemerkt kommt das Lab, wenn auch in geringerer Menge, im Magen des Säuglings und des erwachsenen Menschen, des Rehes, Hirsches, Hundes und anderer Säugetiere vor, teilweise auch bei Fischen und Vögeln (nach Hammersten (9)).

Sehr interessant sind die Untersuchungen von v. Kleckt (12), Vieth (20), Javillier (11), Gerber (8) und neuerdings die Untersuchungen von Teichert und Stockert (22), die in Pflanzen ähnlich wirkende Stoffe wie das Lab nachgewiesen haben.

Zur Herstellung von Lab werden fast ausschließlich Kälbermägen verwandt.

Während man sich früher des selbstbereiteten, sog. Naturlabes bediente, benutzt man heute auch „Kunstlab", das unter Zuhilfenahme von Chemikalien usw. aus Kälbermägen hergestellt wird. Es kommt in der Hauptsache als Trockenlab, Labpulver oder zu Tabletten gepreßt in den Handel. Die genaue Herstellungsweise dürfte in großen Umrissen bei den einzelnen Fabriken im Prinzip die gleiche sein. Über Labherstellung siehe Literaturangaben (21).

Nach den Untersuchungen Allemanns (1) kann man schließen, daß Kunstlab und Naturlab dasselbe ist.

Die Art und Menge der Keime in beiden Labsorten ist aber jedenfalls verschieden.

Bakteriologische Untersuchungen des Naturlabs sind sehr oft ausgeführt: Bennecke und Cohn (4) schreiben die Herkunft der Bakterien im Käse dem Naturlabzusatz zu, denn das Naturlab enthält immer neben Hefen auch Stäbchenbakterien. Die Hefen des Labs sind im Käse kaum wiederzufinden.

Nach Herz (10) stammen die die Lochung und Blähung verursachenden Bakterien und Hefen aus dem Naturlabzusatz.

Über die Mikroflora im Labmagen finden sich in der Literatur sehr viele, z. T. eingehende Untersuchungen.

Als wichtigste Aufzeichnungen sind folgende Stellen anzuführen: Koch (13), Löhnis (15), Freudenreich und Jensen (6), Köstler (14) und Thöni (19).

Zusammenfassend kann folgendes gesagt werden:

Die im Labmagen vorhandenen Organismen können eingeteilt werden in

I. indifferente: Kokken, Sarzinen, Heu- und Kartoffelbazillen;
II. schädliche: Blähungserreger aus der Coli-Aërogenes- und der anaëroben Butterbazillengruppe;
III. nützliche: Milch- und Propionsäurebakterien und Mycoderma.

Zur Herstellung von Lab verwendet man möglichst fettfreie Mägen. Den Endteil des Magens, den Pylorus, schneidet man weg, denn dieser Teil enthält nur wenig Ferment aber sehr viel Schleim. Gerade hier ist der Sitz der großen Anzahl der die Käseblähung hervorrufenden Keime. Ebenso entfernt man die fettigen Anteile (Aufsberg (2)).

Im „Naturlab" werden durch die große Anzahl der Milchsäurebakterien und der dadurch bedingten Säuerung (etwa 46 S. H.) die indifferenten Organismen rasch verdrängt. Die schädlichen und nützlichen entwickeln sich nach ihrer ursprünglichen Anzahl mehr oder weniger reichlich. Durch Aufstellen des Labes bei etwa 30° ist das Wachstum der nützlichen Mikroorganismen zu fördern. Durch Zusatz einer Reinkultur von Bakterium ε und Mycoderma bei der Labbereitung wird die Betriebssicherheit bedeutend erhöht.

Mit gutem Erfolg kann andererseits auch beim Einlaben mit „Kunstlab" ein Zusatz einer Reinkultur von Bakterium ε = Thermobact. helveticum angewendet werden.

Wie sieht es nun mit dem Kunstlab aus?

In chemischer Hinsicht wurden etwa 40 Kunstlabpräparate von Burr und Frahm (5) eingehendst untersucht. Im allgemeinen fiel auf, daß die flüssigen Präparate 8—10 % Kochsalz enthielten, während

die pulverförmigen Labpräparate durchschnittlich einen Gehalt von 85—95 % aufwiesen. Borsäure konnte nur in flüssigen Präparaten nachgewiesen werden. Trotz des hohen Prozentgehaltes an Kochsalz sind noch Organismen vorhanden. Auf die Frage, ob diese Mikroorganismen zur Käsebereitung nützlich oder schädlich sind, werde ich noch später zurückkommen. Zunächst sei kurz gesagt, daß in den Kunstlabpräparaten kaum nützliche Organismen vorhanden sein können.

Welche Arten von Mikroben im Kunstlab vorhanden sind, ist bisher nur sehr wenig und ungenau untersucht worden. Zur Ausfüllung dieser Lücke soll die vorliegende Arbeit ein Beitrag sein.

Bei Bearbeitung des vorliegenden Themas wurde ich von den bekanntesten Lab-Fabriken, die mir in freundlicher Weise ihre Erzeugnisse in Originalpackungen zur Verfügung stellten, unterstützt.

A. Labinfektionspilze.

1. Isolierungsmethodik.

(Anreicherung.)

Für sämtliches Material dienten folgende Substrate als Anreicherungsmittel:

1. Würze zur Erfassung von Hefen und Schimmelpilzen
2. Bouillon als Nährsubstrat für Sporenbildner und evtl. der Coli-Aërogenesgruppe.
3. Magermilch
4. süße Molken
5. Milchzuckerbouillon
6. Molken mit 3 % Pepton
7. Maische

} zur Anreicherung von Milchsäurebakterien.

Sämtliche Anreicherungen wurden 24 Stunden, und zwar (1) bei Zimmertemperatur von 30°, (2—7) je bei 30°, 37° und 45° bebrütet. Die Maische-Anreicherungen wurden 14 Tage lang übergeimpft. Durch die gebildete Säure der evtl. vorhandenen Milchsäurebakterien werden die Sporenbildner, die auch beim Plattenguß sehr störend wirken würden, in ihren Wachstumsbedingungen gehindert und allmählich unterdrückt.

(Plattenkulturen.)

Die entsprechenden Agarnährsubstrate wurden mit den Anreicherungen beimpft und Plattenkulturen angelegt:

1. in Würzeagar, 2. in Bouillonagar, 3.—7. je in Peptonmolkenagar und Milchzuckeragar mit Kreidezusatz (zur Neutralisation der gebildeten Säure).

Sämtliche Platten wurden ebenfalls bei denselben Temperaturen wie die Anreicherung 24 Stunden lang bebrütet. Dann wurden die verschiedenen Kolonien zur weiteren Untersuchung abgeimpft. Bei den Flüssigkeiten 3.—7. beobachtete ich 14 Tage lang, ob sich nicht noch Wachstum einstellte. Ferner wurden noch Plattenkulturen 1. in sauerstoffreien Behältern (mit Pyrrogallol + KOH) und 2. in hoher Schicht angelegt. Die anaëroben Plattenkulturen zeigten dieselben Ergebnisse wie die Versuche in hoher Schicht. Sie wurden deshalb nicht weiter berücksichtigt.

2. Besprechung des Ausgangsmaterials.

Zur Untersuchung ging ich von 16 verschiedenen künstlich hergestellten Labpräparaten des Handels aus.

Davon bestanden 5 Proben aus flüssigem Lab, 9 aus Labpulver und 2 aus Labtabletten.

Die Verpackungen waren bis auf drei Ausnahmen in tadellosem Zustand, so daß eine nachträgliche Infektion während der Lagerung ausgeschlossen war. Die Präparate bezeichnete ich der Reihe nach von A bis Q. Sämtliche Präparate untersuchte ich zunächst auf Alkalität und Azidität, um bei der Menge, die ich zu den Anreicherungen verwendete, einen Ausgleich schaffen zu können. Bei stärkerer Säurezufuhr wäre evtl. der eine oder andere Bakterienstamm verlorengegangen. Weiterhin machte ich von jedem Präparat die Labstärkebestimmung und erzielte folgende Ergebnisse:

Tabelle 1.

		1 ccm Labessenz oder 1 g Labpulver oder 1 Labtablette verbraucht zur Neutralisation an n/10 NaOH	legt in 40′ an ccm einer Milch von 35° dick
1	B	neutral	9 850
2	F	0,5 ccm	10 120
3	K	neutral	10 000
4	N	0,3 ccm	8 980
5	O	neutral	10 010
6	A	0,2 ccm	90 980
7	C	14,2! ccm	85 175
8	D	neutral	98 120
9	E	13,1! ccm	97 950
10	H	neutral	99 850
11	I	„	75 350
12	L	„	100 100
13	M	0,2 ccm	82 310
14	P	0,2 ccm	87 390
15	G	neutral	46 375 a) 0,5 g
16	Q	0,2 ccm	42 510 a) 0,5 g

Die Proben Nr. 1—5 stellen flüssige Präparate, Nr. 6—14 Labpulver und Nr. 15—16 Labtabletten dar. Um einen Überblick über die relative Häufigkeit der Mikroorganismen in den untersuchten Präparaten zu gewinnen, wurden gewöhnliche Gelatineplatten mit einer bei allen Proben gleichmäßigen Menge Labaufschwemmung beschickt und bei 21° aufgestellt. Die Zahl der auf Gelatine wachsenden Arten war bei den flüssigen Präparaten bedeutend höher als bei den festen. Um auch die Keimzahl in 1 ccm oder 1 g oder 1 Labtablette festzustellen, wurden 1. in 10 ccm Bouillon und 2. in 10 ccm Traubenzuckerbouillon mit denselben Mengen, wie oben angegeben, Aufschwemmungen bereitet. Dann wurden Verdünnungen bis 1:1 Million hergestellt und 1. in Bouillonagar und 2. in Traubenzuckeragar Keimzählplatten angefertigt. Beide Ergebnisse wurden addiert; das Mittel ergab die Durchschnittskeimzahl in 1 ccm Labessenz, bzw. 1 g Labpulver oder 1 Labtablette.

Es enthielten die Präparate:

Tabelle 2.

1	B	60 000	flüss. Lab	9	E	0!	
2	F	45 000		10	H	2 500	
3	K	30 000		11	I	24 000	
4	N	44 000		12	L	13 200	
5	O	20 000		13	M	13 000	
6	A	15 000		14	P	12 500	
7	C	3 500		15	G	0!	
8	D	3 000		16	Q	13 000	Keime

Auffallend war, daß Präparat E und G auch nach 6 Monaten keine Organismen enthielten, was wohl auf eine besondere Herstellungsweise (?) und auf die als gut erkannte Verpackung zurückzuführen ist (paraffinierte Glasstöpselflaschen).

Menge des zur Untersuchung gelangten Ausgangsmaterials.

Nach den chemischen Untersuchungen über Lab und Labpräparate von Burr (5) enthalten die flüssigen Präparate 8—10%, die pulverförmigen 85—95% Kochsalz. (Kochsalz ist als Verteilungsmittel für das Labenzym besonders geeignet, antiseptisch wirkt es in den Trockenpräparaten natürlich nicht.) Dies veranlaßte mich, um in den zur Anreicherung dienenden Substraten einen möglichst geringen Prozentgehalt an Kochsalz hineinzubekommen, von der Trockensubstanz etwa je 0,2 g und von der flüssigen etwa je 1 ccm zu verwenden, um möglichst alle Organismen erfassen zu können. Ebenso gab ich entsprechend der angewendeten Menge derjenigen Präparate, die ihrem

Verhalten nach sauer waren, die entsprechende Menge Alkali zu, da sonst durch den hohen Prozentgehalt an Kochsalz sowie an Säure die eine oder andere Mikroorganismenart nicht zur Entwicklung gelangen könnte.

3. Untersuchungen der Präparate auf Gasbildner.

Wichtig ist es natürlich, daß das Lab keine Käseblähung verursachenden Organismen enthält, da sonst diese durch das Einlaben in den Käsebruch hineinkommen würden. Um diese Keime nachzuweisen, führt man folgende Untersuchungen, die ich auch für die von mir untersuchten 16 Kunstlabpräparate anwendete, aus:

Aus Anreicherungen in Bouillon stellt man in Traubenzuckeragar Schüttelkulturen her und läßt 24 Stunden bei 37° bebrüten. Ist der Agar unverändert, dann haben wir eine Gewähr dafür, daß keine Gasbildner vorhanden sein können. Nach meinen Untersuchungen enthielten die 16 Labpräparate keine Gasbildner.

Wären Gasbildner anwesend, so würde der Agar völlig aufgerissen.

4. Isolierungsergebnisse.

Nach diesen Methoden gelang es mir, vom Ausgangsmaterial 87 verschiedene Bakteriengruppen zur Isolierung zu bringen. Die aus Würze isolierten Kulturen waren Hefen, die aus Bouillon Sporenbildner, die aus süßen Molken Kokken und ebenso die aus Traubenzuckerbouillon Kokken und Sarzinen.

Auffallend und vor allem sehr wichtig ist der Umstand, daß in keinem einzigen Präparat Milchsäurebakterien gefunden wurden.

Dies veranlaßte mich, nach vier Monaten nochmals sämtliche Präparate auf Milchsäurebakterien zu untersuchen, wobei sich wieder ein negatives Resultat ergab.

Sehr interessant ist auch, daß die Präparate E und G auch noch nach 6 Monaten keine Organismen enthielten, also steril waren, ferner daß kein einziges Präparat Schimmelpilze noch anaërobe Organismen aufwies. Dies dürfte vielleicht in folgendem seinen Grund haben: Das Präparat E ist stark sauer im Gegensatz zu andern Präparaten (siehe Tab. 1). Präparat G in Tablettenform bietet der nachträglichen Infektion eine viel kleinere Oberfläche als pulverförmige Präparate.

Berücksichtigt man die Herstellungsweise (vergleiche hierüber den Abschnitt über Labherstellung) des künstlichen Labes und vor

allen Dingen den hohen Prozentgehalt an Kochsalz, so erklärt sich das gänzliche Fehlen der Milchsäurebakterien ohne weiteres. 95 % der gefundenen Organismen setzen sich aus Sporenbildnern zusammen. Diese Organismen gehen, wenn sie nicht mehr ihre Lebensbedingungen finden können, bekanntlich in ihren Dauerzustand (die Spore) über, und die Beständigkeit dieser Sporen ist gegen äußere Einflüsse, ob sie nun chemischer oder physikalischer Natur sind, sehr groß. Die Sporen können daher die Labherstellung gut überleben.

Im ganzen wurden 87 Mikroorganismenstämme isoliert, und zwar 4 Hefen, 78 Sporenbildner, 3 Sarzinen und 2 Kokken. Sie wurden der Reihe nach von 1—87 bezeichnet. Nach rein morphologischen und physiologischen Eigenschaften schied ich 58 Stämme von Sporenbildnern, die teils gleich, teils schon bekannt und genau beschrieben waren, aus. 20 der typischsten bearbeitete ich genau. Die isolierten Sporenbildner gehörten meistens zur Mycoides-, Megatherium-, Mesentericus- und Subtilis-Gruppe.

Ebenfalls nicht weiter untersucht wurden die isolierten Sarzinen. Ein Stamm war Sarcina aurantiaca, zwei Stämme Sarcina flava. Diese Stämme dürfen mehr oder weniger als Sekundärinfektion angesehen werden, und ich glaube, darüber hinweggehen zu können.

Ebenso konnte ich die zwei Gruppenstämme als Micrococcus candicans Flügge identifizieren. Die untersuchten 20 Stämme der Sporenbildner konnten eingeteilt werden in:

I. Sporenbildner.

1. Mycoidesgruppe,
2. Megatheriumgruppe,
3. Mesentericusgruppe,
4. Subtilisgruppe,
5. atypische Stämme.

II. Hefen.

Stamm 6/1 rosa Hefe, Stamm 23 Torulahefe, Stamm 58 Torulahefe, Stamm 65 Torulahefe.

5. Morphologische Eigenschaften der Sporenbildner.

Im folgenden werden zuerst die von mir untersuchten 20 Stämme ihrem Verhalten und Aussehen nach näher beschrieben.

a) Verhalten im Federstrich.

Tabelle 3.

Stamm	Bewegung	Schleimbildung	In Ketten	Angabe der hauptsächlichsten Stellung der Sporen	
				mittel	endständig
1	+++	—	+	+	—
4/1	+	—	+	—	+
4/2	+	—	+	—	+
5	+++	(+)	(+)	+	—
6/2	+++	—	+	+	—
8	+++	—	+	+	—
17/1	(+)	+	(+)	+	—
17/2	+	+	(+)	+	—
25	+++	+	+	—	+
35	+	(+)	+	+	—
38/1	+	—	+	+	—
38/2	+	—	+	—	+
39	+++	—	+	+	—
40	(+)	—	+	+	—
48	++	—	+	+	—
50	(+)	—	+	+	—
51	+	—	+	+	—
54	+	—	+	+	—
55	(+)	—	+	+	—
56	++	+	+	+	—

Auffallend war Stamm 25, der bei 30° und bei Zimmertemperatur genau wie bei seiner Optimaltemperatur 45° unaufgeteilte (scheinbar) Zellreihen bildete und eine Trommelschlägerform besaß. Diese eigentümliche Anschwellung ist nur den Zellen eigen, die bereits Sporen ausgebildet haben.

b) In flüssigen Substraten war folgendes zu verzeichnen.

Tabelle 4.

Sporenbildner 1, 4/1, 4/2, 6/2, 8, 51, 54, 55, 56	Leichte Trübung	Oberflächenhaut	Beim Schütteln vollständig zu Boden sinkend
5/1, 35, 40, 48	„	„	beim Schütteln nicht zu Boden sinkend
17/1, 17/2, 25, 50	starke Trübung	keine Hautbildung	
38/1, 38/2, 39	leichte Trübung	Oberflächenhaut	starker Bodensatz

c) Aussehen der Kulturen auf Platten (agar).

Tabelle 5.

	Form der Kolonie	Erhebung der Kolonie	Rand	Struktur und Farbe
1	unregelmäßig rundlich	erhaben	gelockt	matt, trockenhäutig, gelbbraun
4/1	,,	,,	unregelmäßig gelappt	teilweise faltig, unregelmäßig gefurcht, matt, häutig, gelbbraun
4/2	,,	,,	,,	,,
6/2	,,	,,	gebuchtet	,,
8/3	,,	,,	,,	fast radiäre Falten
17/1	,,	,,	,,	granuliert, matt, feucht, graugelb
17/2	,,	,,	,,	,,
25	scheibenförmig	,,	glatt	gelbfeucht, glänzend, Rand heller, glasartig
35	verzweigt	flach	gelockt	dto. 1
38/1	unregelmäßig rundlich	erhaben	ungleichmäßig gelappt	unregelmäßig gefurcht, häutig, weich, matt, gelbbraun
38/2	,,	,,	,,	,,
39	scheibenförmig	,,	glatt gekerbt	granuliert, ganz glatt, mattweiß
40	verzweigt	flach	gelockt	unregelmäßig gefurcht, häutig, gelbweiß
51	unregelmäßig rundlich	erhaben	ungleichmäßig gelappt	dto. 1
54	,,	,,	,,	granuliert, glänzend, gelbweiß, Rand heller
55	verzweigt	flach	,,	unregelmäßig gefurcht, fest aufsitz., gelbweiß
56	scheibenförmig	stark erhaben	fast glatt	unregelmäßig gefurcht, kraterartig, häutig, weißmatt, stark schleimig
5	,,	erhaben	glatt	gefleckt, feucht, schleimig gelblich
48	verzweigt	,,	gelockt	dto. 51
50	scheibenförmig	,,	glatt	granuliert, gleichmäßig feucht, glänzend, gelbweiß

d) Aussehen auf Schrägagarröhrchen nach 24 Std. bei 37°.

Tabelle 6.

	Aussehen	Farbe	Allgemeines	Kondenswasser		
				trübe	Haut	Satz
1	matt	weißlich, gelb	leichte Querfalt., Rand gebuchtet	+	+	—
4/1	,,	weißlich	granuliert, Rand gebuchtet	+	+	—
4/2	,,	,,	lockige Randpartie m. deutl. Querästchen, Rand glatt	+	+	+
5	,,	feucht, starkes Preßwasser	Rand gebuchtet	+	+	+
6/2	,,	weißlich	Rand glatt, stark erhaben, Falten, Rand heller hervortretend, gebuchtet	+	+	+
8/3	matt b. feucht	weißlich	Rand glatt, stark erhaben, Falten, Rand heller hervortretend, gebuchtet	+	+	+
17/1	glänzend stark feucht	gelblich	Rand ganz gleichm. glatt	+	—	—
17/2	,,	,,	,,	+	—	—
25	glänzend feucht	weiß	Randpartie etwas heller	+	—	+
35	matt	,,	Randpartie m. wurzelförm. Ausläufern	+	+	—
38/1	,,	,,	Rand gebuchtet, heller, i. d. Mitte erhaben, Querfalten	+	+	+
38/2	,,	,,	,,	+	+	—
39	,,	,,	Rand m. wurzelförm. Ausläufern, unregelmäßig gefleckt	+	+	—
40	feucht	,,	Rand m. kl. Ausläuf., unregelm. gefleckt	+	+	+
48	matt feucht	,,	Rand mit Ästchen, Struktur unregelm.	+	+	+
50	glänzend feucht	gelblich	ganz glatt	+	+	+

(Fortsetzung von Tabelle 6.)

	Aussehen	Farbe	Allgemeines	Kondenswasser		
				trübe	Haut	Satz
51	matt feucht	weißlich	Rand gebuchtet, helle unregelmäß. Struktur	+	+	—
54	gl. feucht	weiß	keine bes. Merkm.	+	+	—
55	matt	gelblich	R. m. kl. Ästchen	—	+	—
56	„	„	Kolonie erhaben	—	—	—

e) Gelatinestich bei Z. T.

Von sämtlichen Stämmen wurden Gelatinestiche angelegt und dieselben bei Zimmertemperatur beobachtet.

1 schalenförmig, dann trichterförmig, später zylindrisch, rasche Verflüssigung. Nach zwei Tagen vollständig, mäßig trüb mit Oberflächenhaut. — 4/1 dto. 1. — 4/2 dto. 1. — 5 schalenförmig, später trichterförmig, langsame Verflüssigung, Oberflächenhaut einsinkend, senkrecht vom Stichkanal baumförmig verzweigte Ästchen abgehend. — 6/2 zuerst schalenförmig, dann zylindrisch sehr rasche Verflüssigung, mäßig trüb bis leicht flockig, Bodensatz. — 8 zuerst schalenförmig, dann zylindrisch sehr rasche Verflüssigung mit Oberflächenhaut, mäßig trüb, kein Bodensatz. — 17/1 schalenförmig, dann zylindrisch sehr langsame Verflüssigung, im Stichkanal kleine parallele Ästchen, Oberflächenkolonie (Haut) einsinkend, Neubildung. — 17/2 schalen- bis trichterförmig, dann zylindrisch rasch fortschreitende Verflüssigung, keine Oberflächenhaut, flockig, trübe, mit starkem Bodensatz (Hautfetzen). — 25 schalenförmig, sehr langsame Verflüssigung. Oberflächenhaut einsinkend, vom Stichkanal gehen verfilzte parallele Ästchen aus. — 35 schalenförmig, dann zylindrisch rasch verlaufende Verflüssigung. Oberflächenhaut flockig trübe und Bodensatz. — 38/1 schalenförmig, später trichterförmige Verflüssigung. Haut, leicht flockig, trübe und vom Stichkanal gehen senkrecht parallel feine Ästchen ab. — 38/2 schalenförmig, dann zylindrisch langsam verlaufende Verflüssigung, leicht trübe Oberflächenhaut. Vom Stichkanal senkrecht ausgehende parallele zarte Ästchen. — 39, 40, 48 schalenförmig sehr langsame Verflüssigung, Oberflächenhaut einsinkend, keine Ästchen, im unteren Teile des Stiches Gasblasen. — 50 sehr langsame schalenförmige, später zylindrisch fortschreitende Verflüssigung, Oberflächenhaut mäßig trüb, vom Stichkanal zarte Ästchen ausgehend. — 51 schalenförmig, dann zylindrisch rasche Verflüssigung, Oberflächenhaut flockig trübe. — 54, 55 dto. 50. — 56 dto. 51.

f) Kartoffelkulturen.

Kartoffelscheiben wurden in Petri-Schalen sterilisiert und mittels Stich beimpft (beobachtet bei Z. T.).

1 nach 24 Stunden matt, mehlig bestäubt, später erhaben, gebirgig zerklüftet, Farbe gelbbraun. — 4/1 matt, später an Darmschlingen erinnernd, gebirgig zerklüftet, Farbe rosa, später bräunlich. — 4/2 matt, später darmschlingenartig erhaben, Rand wellig gebuchtet, Farbe graubraun. — 5 feucht, glänzend, gelblich, gebirgig zerklüftet, leicht an Darmschlingen erinnernd. — 6 matt, darmschlingenartig bis netzförmig, etwas mehlig bestäubt, gebirgig, rosa. — 8 matt, dto. 6. — 17/1 feucht, kaum Wachstum, gelbbraun. — 17/2 matt, gelblichgrauer Strich. — 25 kaum Wachstum, rosa. — 35 feucht, glänzend, gelbgrau, keine besonderen Merkmale. — 38/1 matt, wenig gebirgig, gelblich. — 38/2 matt, etwas darmschlingenartig, mehlig bestäubt, rosa. — 39 matt, etwas darmschlingenartig, rosa. — 40 feucht, strichförmig, Rand erhaben, rötlich braun. — 48 feucht, leicht gebirgig, gleichmäßig rötlich. — 50 dto. 48 (gelblich). — 51 matt, gebirgig, etwas bestäubt, schlingenartig, bräunlich. — 54 feucht, glänzend, etwas schlingenartig, braun. — 55 rötlicher Strich, später matt, leichte Wellenerhebungen. — 56 matt, dto. 1.

g) Mohrrübenkulturen.

Sämtliche Stämme wurden auf sterile Mohrrüben geimpft. Zellulosevergärer konnten nicht festgestellt werden, während Stamm 17/1, 17/2, 38/1 und 56 Pektin vergärten. Stamm 48 und 50 zeigte überhaupt kein Wachstum. Die zur Mesentericusgruppe gehörigen Stämme zeigten ähnliches Wachstum wie bei den Kartoffelkulturen. Die zur Mykoidesgruppe gehörigen bilden einen gleichmäßigen Überzug.

h) Anaërobes Wachstum.

Zur Prüfung des anaëroben Wachstums der Stämme wurden 1. Platten gegossen und 2. Schrägröhrchen angelegt (Bouillonagar). Sämtliche Kulturen wurden unter Glasglocken gebracht, die Luft möglichst evakuiert, und durch Neigen des Gefäßes das im Innern sich befindende Pyrogallol mit der Kalilauge zusammengebracht. Die sauerstoffreien Kulturen wurden bei 37° aufbewahrt. Stamm 1, 4/2, 5/2, 8, 38/2 und 39 zeigten kaum eine Spur von Wachstum, während Stamm 4/1 und 38/1 gut gediehen. Die übrigen Stämme wuchsen schwach an, entwickelten sich aber nicht weiter, es konnte bald Sporenbildung nachgewiesen werden.

i) Prüfung auf Indol.

Nach Anreicherung der Stämme in Trypsinbouillon (zum Indolnachweis) konnte nach 24 Stunden bei 37° mit Dimethylamidobenzaldehyd in keinem Fall Indolbildung nachgewiesen werden.

k) Prüfung auf Schwefelwasserstoffbildung.

Die zu untersuchenden Stämme wurden in Bouillon mit etwas Schwefelblumen eingeimpft. In jedes Reagenzglas wurde ein Bleiazetatpapierstreifen eingehängt und bei 37° aufbewahrt. H_2S-Bildung war an der Bräunung des Azetatstreifens nachzuweisen. Stamm 5, 17/1, 35, 38/2, 40, 50 und 54 bildeten kein H_2S, Stamm 8 und 25 sehr stark. Die übrigen Stämme entwickelten nur sehr schwach H_2S.

l) Nitratreduktion.

Sämtliche Stämme bis auf 17/1 und 25 reduzierten in Salpeterbouillon das Nitrat zu Nitrit.

m) Feststellung der Lebensfähigkeit.

1. Gegen Säure (verschiedener p_H-Gehalt),
2. gegen Salz (bei verschiedenem Prozentgehalt).

Tabelle 7.

Stamm	p_H-Gehalt				
	7,2	6,6	6,2	5,8	5,4
1	+++	++	+	(+)	—
4/2	+++	++	+	(+)	—
4/1	+++	++	+	(+)	—
5	+++	+	(+)	—	—
6	+++	++	+	(+)	—
8	+++	++	+	(+)	—
17/1	+++	+	—	—	—
17/2	+++	++	+	—	—
25	+++	++	+	(+)	—
35	+++	+	(+)	—	—
38/1	+++	+	(+)	—	—
38/2	+++	++	++	+	—
39	+++	++	+	—	—
40	+++	++	++	+	—
48	+++	++	++	+	—
50	+++	++	—	—	—
51	+++	++	—	—	—
54	+++	+	(+)	—	—
55	+++	++	++	+	—
56	+++	++	+	—	—

Wachstum: sehr stark = +++, gut = ++, mäßig = +, kaum = (+), kein = —.

1. Es wurden Bouillonreihen mit verschiedenem p_H-Gehalt angelegt, beimpft und bei der jedem Stamm entsprechenden Optimaltemperatur bebrütet.

Aus dieser Tabelle kann man leicht das Wachstum der einzelnen Stämme bei verschiedenem p_H-Gehalt erkennen. Einen p_H-Gehalt von 6,2 vertrugen noch alle Stämme bis auf 17/1. p_H 5,8 vertrugen 38/2, 40, 48, 55 noch gut, hemmend wirkte er auf Stamm 1, 4/2, 4/1, 6, 8 und 25, während bei den übrigen bereits kein Wachstum mehr zu beobachten war. Bei einem p_H-Gehalt von 5,4 war das Wachstum bei allen Stämmen negativ.

2. Ferner wurde das Wachstum bei verschiedenem Prozentgehalt an Kochsalz in Bouillon beobachtet.

15 % Kochsalz vertrug kein Stamm. Bei $12\,^1/_2$ % konnte nach 4 Tagen noch kein Wachstum beobachtet werden. Nach 12 Tagen gewöhnten sich Stamm 48, 55, 35, 39 und 40 langsam ein. In 10 % Kochsalzlösung wuchsen alle Stämme, wenn auch langsam. $7\,^1/_2$ % beeinträchtigte in keiner Weise das Wachstum.

Zur Bestimmung wurde das Handbuch der spez. bakteriol. Diagnostik von Dr. Lehmann und Dr. Neumann benützt.

Als Vertreter der Mycoidesgruppe ist Stamm 5, 17/1, 35, 38/2, 50/2, 54 und 55 anzusprechen. Stamm 17/1 neigt nach seinem Aussehen in Plattenkultur zur Mesentericusgruppe, Stamm 38/2 mehr zur Subtilisgruppe.

Die folgenden Stämme 4/1, 4/2, 17/2, 38/1 und 56 gehören zur Gruppe des Bacillus mesentericus. Stamm 1, 39, 40, 48, 51 sind typische Vertreter der Subtilisgruppe.

Stamm 25 ist durch seine an die anaëroben Bazillen erinnernde Form beim Vorhandensein von Sporen charakterisiert, er konnte eindeutig als Bacillus sphaericus identifiziert werden.

Stamm 6 und 8 verkörpern die Gruppe des Bacillus vulgatus.

6. Morphologische Eigenschaften der Hefen.

Die vier isolierten Hefen setzten sich zusammen aus:

1. Hefe 6 = schleimbildende rosa Hefe.
2. Hefe 23 = Torula.
3. Hefe 58 = Torula.
4. Hefe 65 = Torula.

In flüssigen Substraten war folgendes zu beobachten:

6/1 trüb, leichte Hautbildung, starker Bodensatz
23 „ Haut an der Wand hochsteigend, Bodensatz
58 „ „ „ „ „ „ „
65 „ „ „ „ „ „ „

Im Federstrich war Stamm 6/1 stark schleimbildend und zeigte keine Sproßverbände. 23, 58, 65 zeigten schöne Sproßverbände, es handelte sich um runde Torulahefen mit großen Fettropfen im Innern.

Sporenbildung auf Gipsblockkultur war in keinem Falle zu beobachten. Die Zuckerreihen mit den 4 Hefen durchgeführt verliefen sämtlich negativ.

7. Untersuchungen der Kulturen in den für die Milchwirtschaft wichtigen Substraten.

Zuerst untersuchte ich das Verhalten sämtlicher Stämme bei ihrer Optimaltemperatur in Milch. Als Nährsubstrat diente durchweg sterile Magermilch. Es wurde hauptsächlich darauf Wert gelegt, ob die entsprechenden Organismen Säure oder Alkali bildeten, eine Coagulierung oder Peptonisierung oder beides zusammen veranlaßten. Weiter wurde der Geruch und die Beschaffenheit nach Einwirkung der betreffenden Organismen festgestellt.

a) 1. Verhalten in Milch bei Optimaltemperatur.

1. Sporenbildner: 1 erster Tag leicht anfangende Peptonisation mit schwacher Coagulation. Am 5. Tag vollständig peptonisiert mit Oberflächenhaut, Geruch schlecht, schwache Säurebildung (0,2 % Säure). (Prozentgehalt wurde auf Milchsäure umgerechnet.) — 4/1 erster Tag koaguliert mit Molkenaustritt anfangender Peptonisation. Am 5. Tag Auflösung des Coagulums, fast vollständige Peptonisation. Geruch schlecht nach faulen Eiern. Schwache Säurebildung (0,18 %). — 4/2 dto. 4/1. Säurebildung 0,16 %. — 5 erster Tag vollständige Dicklegung mit Molkenaustritt. Keine Peptonisation. Säurebildung 1,2 %, Geruch nach saurer Milch. — 6/2 erster Tag Dicklegung, leicht anfangende Peptonisation. 5. Tag Auflösung des Coagulums und vollständige Peptonisation. Geruch schlecht, Säurebildung 0,5 %. — 8 erster Tag Coagulierung, 5. Tag Auflösung und Peptonisation. 7. Tag vollständig peptonisiert. Geruch schlecht. Säurebildung 0,4 %. — 17/1 erster Tag —. 2. Tag dick, 4. Tag Auflösung und Anfang der Peptonisation. 12. Tag vollständig peptonisiert. Säurebildung 1,0 %. — 17/2 erster Tag anfangende Peptonisation ohne Coagulierung. 4. Tag vollständig peptonisiert. Säurebildung 0,4 %. — 25 keine Veränderung. Weder Säure noch Alkalibildung. — 35 zweiter Tag coaguliert, Molkenaustritt. 5. Tag anfangende Peptonisierung. 14. Tag langsam fortschreitende Peptonisation. Säurebildung 0,4 %. — 38/1 erster Tag dick, Molkenaustritt. 5. Tag anfangende Peptonisation, 14. Tag vollständig peptonisiert. Säurebildung 0,4 %. — 38/2 achter Tag an-

fangende Peptonisation, leichte Coagulierung. 21. Tag aufgelöst, vollständig peptonisiert. Säurebildung 0,75‰. — 39 erster Tag dick, Molkenaustritt, nach 14 Tagen teilweise peptonisiert. Säurebildung 1,15‰. — 40 fünfter Tag dickgelegt, 10. Tag Auflösung und Peptonisierung. Säurebildung 1,0‰. — 48 zweiter Tag dick, Molkenaustritt, nach 14 Tagen teilweise peptonisiert. Säurebildung 1,2‰. — 50 fünfter Tag dick, Molkenaustritt, anfangende Peptonisation, nach 14 Tagen vollständig. Säurebildung 0,6‰. — 51 siebenter Tag dick mit anfangender Peptonisation. Nach 14 Tagen vollständig. Säurebildung 0,4‰. — 56 erster Tag leichte Coagulation, anfangende Peptonisation, nach 14 Tagen vollständig. Säurebildung 1,0‰. — 55 dto. 54. Säurebildung 0,3‰. — 54 siebenter Tag dick, mit anfangender Peptonisation, 14. Tag vollständig. Säurebildung 0,4‰.

2. Hefen. Bei sämtlichen vier Stämmen konnte auch nach zwei Monaten noch keine Veränderung der Milch wahrgenommen werden.

a) 2. bei verschiedenen Temperaturen.

Dieselben Versuche wurden auch bei den Temperaturen, die bei der Käsebereitung Verwendung finden, durchgeführt: 35° (Einlabungstemperatur), Zimmertemperatur und Kühlraum.

Auch hier konnte, wie im vorigen, beobachtet werden, daß sämtliche Stämme mit Ausnahme von Stamm 25 und den vier Hefestämmen die Milch peptonisieren. Auffallend war, daß bei vielen Sporenbildnern, die bei höherer Temperatur die Milch zuerst coagulierten und dann erst peptonisierten, bei niedriger Temperatur sofort Peptonisation ohne vorherige Bildung eines Coagulums eintrat. Wie groß und wie stark der Abbau bei jedem einzelnen Stamm ist, wird in der Tabelle 8 des folgenden Abschnittes dargelegt.

b) Formol-Titration.

Versuchsanordnungen: Genau 100 ccm Milch wurden in gleich großen Kolben sterilisiert. Ich wählte dieselbe Größe der Kolben, um in allen Kulturen eine möglichst gleich große Oberfläche zu erzielen. Dann beimpfte ich mit je 1 ccm Bakterienaufschwemmung. Diese wurde hergestellt, indem eine Öse Impfmaterial von frisch angelegten, 24 Stunden alten Schrägröhrchen in 5 ccm sterilem Wasser gleichmäßig verteilt wurde. Sämtliche Kulturen ließ ich dann bei Zimmertemperatur stehen und titrierte zum ersten Male nach 2, dann nach 6, 10 und 20 Tagen. Die Formol-Titration wurde nach den von Sörensen (18) angegebenen Bedingungen durchgeführt.

Es wurden folgende Resultate erzielt:

Tabelle 8.

Stamm	2. Tag	6. Tag	10. Tag	20. Tag
1	3,93	8,21	14,32	16,71
4/1	2,35	4,25	11,87	16,58
4/2	4,1	9,12	15,22	16,63
5	2,1	4,32	8,45	9,21
6	4,21	8,65	11,32	16,53
8	5,11	8,76	15,37	16,17
17/1	4,21	6,4	6,95	12,13
17/2	5,21	13,18	15,23	16,25
25	2,23	2,25	2,25	2,25
35	3,88	7,29	10,32	15,77
38/1	2,52	6,24	7,89	10,13
38/2	8,21	14,33	16,27	16,59
39	5,16	8,23	15,21	16,01
40	2,21	9,38	14,71	15,82
48	3,11	5,91	7,54	8,32
50	2,27	5,81	14,33	15,90
51	2,9	4,13	9,21	12,11
54	2,91	5,33	16,22	16,23
55	3,23	5,15	10,12	15,81
56	2,55	6,31	12,23	15,71

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß Stamm 25 auch nach 20 Tagen die Milch nicht zersetzt. Die übrigen Stämme bauen die Milch sehr stark ab.

c) Kaseinabbau.

Im weiteren wurden Versuche über den Kaseinabbau der untersuchten Stämme angestellt.

Versuchsanordnung: Es wurden mit Bouillonagar nach Zusatz von etwa 3 ccm steriler Magermilch Platten angelegt. Diese wurden umgekehrt im Brutschrank bei 45° zwei Tage gehalten, um sie möglichst abzutrocknen. Dann wurde mittels Strich- und Stichkultur geimpft und bei Zimmertemperatur im weiteren beobachtet.

1 nach einem Tag Anfang der Aufhellung, am 3. Tag vollständig. Nach 10 Tagen Platte sehr schleimig, vollständig von Bakterien überzogen, Ammoniakentwicklung. — 4/1 am 2. Tag Anfang der Erhellung, am 5. überwuchert, vollständig aufgehellt, Ammoniakbildung. — 4/2 dto. 4/1. — 5 keine Aufhellung zu beobachten. — 6/2 am 1. Tag Anfang der Aufhellung, am 5. Tag vollständig, Ammoniakbildung. — 8 ebenfalls schon am 1. Tag Anfang der Aufhellung, am 4. Tag Ammoniakbildung, vollständig aufgehellt. — 17/1 schwache Aufhellung zu beobachten. — 17/2 am 15. Tag fast aufgehellt. — 25 keine

Aufhellung zu beobachten. — 35 dto. — 38/1 am 3. Tag Anfang der Aufhellung. — 38/2 am 1. Tag Anfang der Aufhellung, am 5. Tag Ammoniakbildung, vollständig aufgehellt. — 39 vom 4. Tag an allmähliche Aufhellung zu beobachten. — 40 am 1. Tag Anfang der Aufhellung, am 5. Ammoniakbildung, vollständige Aufhellung. — 48 vom ersten Tag an zunehmende Aufhellung. — 50 ebenfalls Aufhellung. — 51 ebenfalls Aufhellung. — 54 am 1. Tag Anfang der Aufhellung, am 15. Tag vollständig. — 55 am 1. Tag Anfang der Aufhellung, am 4. Ammoniakbildung, vollständig aufgehellt. — 56 Schon am 2. Tag vollständige Aufhellung.

Bei den Hefestämmen 6/1, 23, 58 und 65 war keine Aufhellung wahrzunehmen, also kein Kaseinabbau. Bei den Sporenbildnerstämmen 1, 4/1, 4/2, 6/2, 8, 38/2, 40 und 55 war der Abbau so stark, daß Ammoniak nachgewiesen werden konnte. Stamm 5, 25 und 35 zeigten keine Aufhellung, also keinen Kaseinabbau.

d) Verhalten der Stämme auf sterilem Labkäse.

Versuchsanordnung. In kleinen Erlenmeyer-Kölbchen zu 100 g wurden mit je 100 g Milch durch Labzusatz kleine Labkäschen hergestellt und sterilisiert. Nachdem möglichst alle Flüssigkeit abgegossen war, wurden die Labkäschen mit je einer Nadel voll Material beimpft und bei Zimmertemperatur 4 Wochen lang beobachtet. Nach Ablauf dieser Zeit war folgendes zu beobachten:

1. Sporenbildner. 1 Geruch schlecht, nach faulem Käse, vollständig flüssig und peptonisiert. — 4/1 Geruch sehr schlecht, ähnlich Fischleim, Farbe gelbgrau, vollständig flüssig und peptonisiert. — 4/2 Geruch faulig, zäh schleimig, peptonisiert, Farbe gelblich. — 5 Geruch faulig, flüssig, etwas schleimig und peptonisiert, Farbe gelbgrau. — 6/2 Geruch nach altem faulen Käse, gleichmäßig flüssig, peptonisiert, etwas schleimig, gelblich weiß. — 8 Geruch stinkend faul, gleichmäßig schleimig flüssig. — 17/1 Geruch schlecht, zähflüssig, peptonisiert. — 17/2 Geruch eigenartig faulig, leichter Ammoniakgeruch, peptonisiert flüssig, Farbe braun. — 25 Geruch gut, keine Veränderung, Konsistenz ebenfalls gut. — 35 Geruch schlecht, faulig, Farbe gelblichbraun, verflüssigt. — 38/1 Geruch sehr schlecht, zähschleimig, Farbe gelb. — 38/2 Geruch nach altem faulen Käse, gelbbraun, flüssig schleimig. — 39 Geruch faul, flüssig schleimig, peptonisiert, gelbbraun. — 40 Geruch schlecht, schleimig flüssig, gelbgrau. — 48 Geruch faulig, peptonisiert flüssig. — 50 Geruch nicht gerade schlecht (Käsegeruch), etwas schleimig, flüssig, gelbbraun. — 51 Geruch faulig schlecht, flüssig schleimig, gelbbraun. — 54 Geruch

nach faulem Käse, peptonisiert gelbgrau. — 55 Geruch schlecht erdig, zähschleimig, gelblichrötlich. — 56 Geruch faulig, vollständig peptonisiert, flüssig gelb.

2. Hefen. 6/1 Geruch gut, keine Veränderung, vollständiger Hefenüberzug, innen ebenfalls von Hefen durchdrungen. — 23 Geruch nach gutem Käse, sonst keine Veränderung. Geschmack ebenfalls wie 6/1, fad, lederartig. — 58 Geruch nach älterem Käse, sonst keine besonderen Merkmale. Hefenüberzug, Geschmack nicht gut. — 63 dto. 23.

e) Kultur auf Quarkkäse für Hefen.

Versuchsanordnung wie unter 7 d. 4 Wochen beobachtet. 6/1 Geruch nach gutem Käse, Geschmack lederartig, Farbe rosa, vollständig durchdrungen und überzogen. — 23 Geruch nach säuerlichem Quark, Geschmack fade, leichter Hefenüberzug. — 58 und 65 wie bei Stamm 23. Bei diesen Kulturen konnten keine weiteren Veränderungen, auch nicht nach 6 Wochen, festgestellt werden.

f) Fettspaltung.

Von den 20 Sporenbildnerstämmen greifen alle, die zur Mycoidesgruppe gehören, und viele der Mesentericusarten außer 17/2, 56 und 25 Fett rasch und energisch an. Alle fettangreifenden Stämme üben ihre Wirkung nach 5 Tagen bei Zimmertemperatur aus.

8. Herstellung von Labkäse.

In diesem Versuch soll gezeigt werden, welche Labinfektionspilze bei Herstellung von Labkäsen mit steriler Milch zur Entwicklung gelangen.

Versuchsanordnung.

Gewöhnliche Milch wurde dreimal im Dampftopf sterilisiert. Durch Zugabe eines löslichen Kalksalzes (einer 1 % igen vorher sterilisierten Kalziumchloridlösung) mußte ich die Milch wieder gerinnbar machen, da sie infolge der starken Erwärmung beim Sterilisieren diese Eigenschaft verloren hatte.

Die sterile Milch (Nachweis durch Anreicherungsversuche) versetzte ich mit 5 % einer Rahmeinsäurungskultur, ließ einige Stunden bei 37° stehen und beimpfte weiter mit einem geeigneten Oidium.

Durch das Wachstum (Stoffwechsel) des Oidiums wird die durch die Milchsäurebakterien gebildete Säure abgestumpft.

Auf 1 ccm dieser Milch entfielen 65 000 Keime der Milchsäurebakterien. Sporenbildner waren nicht nachzuweisen.

Nun verteilte ich die Milch unter möglichst sterilen Bedingungen auf sterile „Käseschalen“ (etwa je 250 ccm). Jeder Käseschale gab ich die für 250 ccm Milch berechnete Labmenge hinzu, und zwar benützte ich hierzu die von mir untersuchten Kunstlabpräparate. Eingelabt wurde in allen Fällen bei einer konstanten Temperatur von 35° C.

Nachdem die Milch geronnen war, und der Bruch sich abgesetzt hatte, stellte ich sämtliche Käseschalen schräg, verdichtete den Rand bis auf eine kleine Stelle unten sorgfältig mit Watte, so daß die vom Käsebruch ausgepreßten Molken ungehindert hindurchsickern konnten. Somit war eine nachträgliche Luftinfektion ausgeschlossen.

Nach 14 Tagen war die Flüssigkeit entfernt. Auf allen Käsen war ein gleichmäßiger Überzug des Oidiums zu beobachten. Die Käseschalen benannte ich analog des angewendeten Labes (siehe Tabelle 1 und 2) mit A bis Q.

Nach 24 Tagen machte sich bei A, B, F, I, L und M, bei den übrigen außer E und G nach 30 Tagen das Auftreten von Sporenbildnern bemerkbar. Das Oidium wurde mehr und mehr zurückgedrängt. Es trat Peptonisierung und allmähliches Ablaufen der Käse auf.

Erst nach 6 Wochen wurden die Käseschalen geöffnet. Die Käse waren alle bis auf E und G mehr oder weniger stark peptonisiert. Der Geruch war sehr unangenehm.

Die bakteriologische Untersuchung ergab, daß die hieraus isolierten Organismenstämme mit den entsprechenden eingeimpften Labinfektionspilzen identisch waren.

B. Versuche über Labherstellung.

I. Kunstlab.

Die hier im folgenden beschriebenen Untersuchungen über Labherstellung wurden sämtlich in Laboratoriumsversuchen durchgeführt. Es kam hier nicht darauf an zu zeigen, wie man durch rationelles Arbeiten hochwertige gute Ausbeute erhalten kann, sondern festzustellen, welche Arten von Mikroorganismen aus dem Labmagen die Labherstellung überdauern. Solche könnten als primäre Labinfektionspilze in Betracht kommen. Ich verglich meine beschriebenen Organismenarten mit den aus dem selbsthergestellten Lab isolierten Arten.

Wenn eine primäre Infektion nicht in Frage käme, so dürften diese Saprophyten durch das Verpackungsmaterial oder auf sekundäre Weise als Luftinfektion in das Lab gelangt sein.

1. Ausgangsmaterial.

Als Ausgangsmaterial dienten getrocknete Kälbermägen, die ich vom Kieler Städtischen Schlachthof bezog. Sie wurden hier in derselben Weise zubereitet, wie ich schon früher ausführlich berichtet habe. Sie waren sehr fettarm und sehr faltenreich, entsprachen also vollkommen den gewünschten Anforderungen. Zur Bearbeitung kamen drei Mägen (Nr. I, II und III).

2. Herstellung von Pulverlab.

Von Magen I wurden beide Enden abgetrennt. Diese sind, wie schon gesagt, für den Gebrauch schlecht und untauglich, weil sie fast kein Ferment besitzen und hier der Sitz der schädlichen Bakterien ist.

Der Magen wurde auf der Außenseite durch Bürsten von anhaftendem Schmutz und Staub gereinigt, dann schnitt ich in Abständen von je 5 cm kleine Stücke heraus. Diese Teile sollten wie die abgetrennten Enden als Ausgangsmaterial zur Bestimmung der Mikroflora des Labmagens dienen (siehe unter 4).

Der übrige Teil des Magens wurde kleingeschnitzelt und mit 1000 ccm sterilem Wasser, dem 5 % Kochsalz und 6 % Alkohol zugesetzt waren, in einem Glaskolben übergossen. Dies Gemisch ließ ich 10 Tage bei einer Temperatur von 20—22° C unter öfterem Umschütteln stehen.

Wasser, Kochsalz und sämtliche Gefäße wurden vorher sorgfältig gereinigt und sterilisiert. Ebenso wurde während der Herstellung eine sekundäre Infektion vermieden.

Während dieser Mazeration entnahm ich am 1., 3., 5., 7. und 10. Tag je eine Probe, brachte davon je 1 ccm zu 9 ccm Bouillon und zu 9 ccm Traubenzuckerbouillon, legte Verdünnungsreihen im Verhältnis 1 : 10 000, 1 : 100 000 und 1 : 1 000 000 an und goß mit diesen in den entsprechenden Substraten Keimzählplatten, ließ bei 37° bebrüten und zählte dann aus.

Tabelle 9.

	Keime in Bouillonagar	Keime in Traubenzuckeragar	im Mittel davon ergab Keimzahl pro ccm
1. Tag	2 740 000	1 860 000	2 300 000
3. Tag	1 880 000	1 520 000	1 700 000
5. Tag	1 400 000	1 200 000	1 300 000
7. Tag	910 000	710 000	810 000
10. Tag	530 000	480 000	505 000

Aus dieser Tabelle sehen wir, daß die Keimzahl von 2 300 000 am 1. Tag, am 10. auf 505 000 Keime pro ccm zurückgegangen war. Dies dürfte auf den hohen Kochsalz- und Alkoholgehalt zurückzuführen sein. Schon am 5. Tage konnten keine Gasbildner mehr nachgewiesen werden. Am 10. Tage war auch die Menge der vorhandenen Milchsäurebakterien wesentlich zurückgegangen.

Nach 10 Tagen wurde das ganze Gemisch durch Seesand filtriert und das Filter nochmals mit alkoholischer Salzlösung nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Hochvakuum bei einer 35° nicht übersteigenden Temperatur eingedampft. Nachdem etwa nur noch 20 ccm vorhanden waren, gab ich 25 % eines Gemisches, das aus 95 % Kochsalz, 4 % Milchzucker, 1 % eines für Lab, unschädlichen Konservierungsmittels (Borsäure und Natriumbenzoat zu gleichen Teilen) bestand, hinzu und dampfte bis zur Trockene ein.

Das fertige Präparat wurde zur weiteren Untersuchung steril aufbewahrt.

3. Beschaffenheit des fertigen Labpulvers.

Das fertige Labpulver stellte ein mittelfeines, etwas würzig riechendes Pulver dar. Die Labstärke betrug 1 : 14 000; die Keimzahl pro g 420 000 Keime.

Nach der schon früher für Labinfektionspilze angegebenen Isolierungsmethode konnten folgende Mikroorganismenarten isoliert werden: Hefen: 2 Stämme, Sporenbildner: 10 Stämme. Schimmelpilze, Milchsäurebakterien und Coli konnten nicht mehr nachgewiesen werden.

4. Flora des Labmagens.

Nach der hier ebenfalls angewandten Isolierungsmethodik konnten aus Labmagen I (siehe unter 2) folgende Organismen isoliert werden:

a) Hefen 3 Stämme.
b) Schimmelpilze 0.
c) Sarzinen 3.
d) Fluoreszenten 2.
e) Milchsäurebakterien 10.
f) Sporenbildner 15.
g) Coli-Aërogenesgruppe 7.

a) Hefen. Die drei Hefenstämme stellten 1. eine rosa Hefe, 2. und 3. je eine Torula dar.

In Milch verhielten sich alle drei Stämme vollkommen indifferent. Alkali oder Säure wurde nicht gebildet. Die Zuckerreihe verlief für

alle drei Stämme negativ, ebenfalls war Sporenbildung in keinem Falle nachzuweisen. In sterilen Labkäsen, die mit den einzelnen Hefen beimpft wurden, war von Hefe 1 nach 4 Wochen folgendes zu bemerken: Geruch angenehm nach gutem Käse, Farbe rosa, vollständig von Hefe durchdrungen, sonst keine Veränderung wahrzunehmen, Geschmack etwas fade.

Von Hefe 2 und 3 konnte ein leichter Überzug festgestellt werden. Geruch war gut, sonst ebenfalls keine Veränderung. Kein Ablaufen des Käses. Geschmack bei 2 fade, lederartig, bei 3 nicht gut.

b) Schimmelpilze waren in keinem Falle zu beobachten.

c) Sarzinen. Stamm 1 und 2 konnte als Sarzina flava und Stamm 3 als Sarzina aurantiaca identifiziert werden.

d) Fluoreszenten. Die beiden isolierten Stämme waren ihrem Verhalten nach mit dem von Lehmann und Neumann beschriebenen Bakterium Fluoreszens (Flügge) identisch.

e) Milchsäurebakterien. Von den 10 Stämmen konnten 7 aus Aërobenkulturen und 3 aus Anaërobenkulturen isoliert werden. Zu ihrer Bestimmung wurde 1. das Verhalten in Milch bzw. die Optimaltemperatur für die Dicklegung und 2. das Verhalten Kohlenhydraten gegenüber zugrunde gelegt.

Tabelle 10.

	Min.	Wachstumstemperatur (in Grad C) Opt.	Max.	Oberflächenwachstum
1	5	37—45	50—55	sehr wenig
2	5	Z. T. b. 30	37—45	wenig
3	5	40—45	50	fehlt (anaërob gez.)
4	5	40—45	50	fehlt (anaërob gez.)
5	5	37—45	50—55	in Spur
6	25	40	50—55	in Spur
7	25	40	50—55	in Spur
8	5	40—45	50	fehlt (anaërob gez.)
9	5	Z. T. b. 30	37—45	wenig
10	25	40	50—55	in Spur

Dann wurden die „Zuckerreihen“ mit folgenden Stoffen durchgeführt:

I. Caseïn
II. Arabinose
III. Xylose
IV. Rhamnose
V. Dextrose
VI. Galaktose
VII. Mannose
VIII. Rohrzucker

IX. Malzzucker
X. Milchzucker
XI. Raffinose
XII. Stärke
XIII. Dextrin
XIV. Inulin
XV. Glyzerin
XVI. Mannit
XVII. Sorbit
XVIII. Salizin.

Die Ergebnisse waren:

Tabelle 11.

Stamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I.	(+)	(+)	–	–	(+)	+	+	–	(+)	+
II.	(+) –	(+) –	(+)	(+)	–	–	–	(+)	(+) –	–
III.	+	(+)	–	–	+	–	–	–	(+)	–
IV.	+	(+)	–	–	+	–	–	–	(+)	–
V.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VI.	–	(+)	–	–	–	–	–	–	(+)	–
VII.	–	+	(+)	(+)	–	–	–	(+)	+	–
VIII.	+	(+)(–)	+	+	+	–	–	+	(+)(–)	–
IX.	+	+	(+)	(+)	+	+	+	(+)	+	+
X.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
XI.	–	(+)	–	–	–	(+)	(+)	–	(+)	(+)
XII.	–	(+) –	–	–	–	(+)	(+)	–	(+) –	(+)
XIII.	+	(+)	–	–	+	(+)	(+)	–	(+)	(+)
XIV.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
XV.	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–
XVI.	+	(+)	(+)	(+)	+	–	–	(+)	(+)	–
XVII.	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–
XVIII.	–	(+)	–	–	–	(+)	(+)	–	(+)	(+)

Aus dieser Tabelle können wir auf die verschiedenen Arten schließen.

Stamm 3, 4 und 8 (anaërobes Wachstum waren Streptococcus thermophilus.

Stamm 6, 7 und 10 erwiesen sich als Thermobakterium helveticum.

Bei allen drei Stämmen wurde die Eigenschaft, Eiweiß abzubauen, festgestellt.

Stamm 2 und 9 waren Streptococcus lactis und Stamm 1 und 5 Streptococcus glycerinaceus.

f) Sporenbildner. Diese 15 isolierten Stämme setzen sich in der Hauptsache aus der Heu- und Kartoffelbazillengruppe zusammen.

g) Coli-Aërogenesgruppe. Sämtliche Stämme zeigten Bewegungen. Es kam daher nur Coli in Frage. Zur Bestimmung derselben benutzte ich die Tabelle von Stutzer (Bakt. Centralblatt II. Bd. 66, 1926).

Die Optimaltemperatur war für sämtliche Stämme 37° C. Aus Dextrose, Mannit und Laktose wurden von sämtlichen Stämmen Säure und Gas gebildet. Gelatine zeigte in keinem Fall Verflüssigung. Nach Stutzers Bestimmungstabelle kam also nur

Coli commune Escherisch

in Frage.

5. Vergleichende Betrachtungen der Mikroben aus dem Lab mit der Mikroflora des Labmagens.

Wenn wir die Mikroflora dieses Magens betrachten und mit den aus dem fertigen Lab isolierten Mikroorganismen vergleichen, so gelangen wir zu folgendem Resultat:

Die zwei Hefen aus dem Lab stellten eine stark schleimige rosa Hefe und eine Torula dar, die sich nach Aussehen und ihrem sonstigen Verhalten nach mit denen direkt aus dem Magen isolierten deckten. Milchsäurebakterien waren nicht mehr nachzuweisen. Ebenso waren die Colibakterien und Fluoreszenten eingegangen. Die Sporenbildner aus dem Lab deckten sich in morphologischer und physiologischer Hinsicht vollkommen mit den direkt aus dem Magen isolierten.

6. Herstellung von flüssigem Lab.

Magen II und III wurden ebenfalls wie unter Versuch I behandelt. Zur Bestimmung der Flora dieser zwei Mägen wurden verschiedene Stellen innen und außen mit sterilen Ösen abgekratzt und dies Material zur Isolierung von Mikroben verwendet. Nach Abtrennung der Enden wurden beide Mägen ebenfalls kleingeschnitzelt und mit 1000 ccm sterilem Wasser, dem $4^1/_2$% Kochsalz, $^1/_2$% Salpeter, 7% Alkohol und $^1/_2$% konzentrierte Salzsäure zugegeben waren, denselben Prozessen wie unter I unterworfen.

Mit dem Eindampfen im Vakuum wurde aufgehört, nachdem die Flüssigkeit noch etwa 100 ccm betrug. Ich versetzte mit etwas Borsäure und filtrierte das nun fertige flüssige Labpräparat in ein Steingutgefäß.

Es war eine goldgelbe, angenehm würzig riechende Flüssigkeit. Die Labstärkebestimmung ergab 1 : 10000. Die Keimzahl betrug nur 150 Keime pro ccm.

Dies ist auf den größeren Prozentgehalt an Alkohol und auf die zugegebene Salzsäure zurückzuführen.

Es konnten lediglich drei Stämme von Sporenbildnern zur Isolierung gebracht werden.

Die Zusammensetzung der Mikroorganismenarten dieser beiden Mägen deckte sich mit der in Versuch I festgestellten Flora. Dies dürfte durch die Untersuchungen von Thöni (27), der spezielle Angaben über die Mikroflora im Labmagen gemacht hat und diese als konstant bezeichnet, bestärkt werden. Die aus dem Lab isolierten drei Sporenbildnerstämme waren ebenfalls als primäre Infektion zu betrachten.

Aus diesen Untersuchungen sehen wir, daß die aus Lab isolierten Mikrobenstämme als primäre Infektion vorhanden sind. Sie sind also schon im Labmagen vorhanden und überdauern die Herstellungsweise des Labes. Für die Milchsäurebakterien trifft dies nicht zu. Es konnten auch hier im fertigen Endprodukt keine Milchsäurebakterienarten mehr zur Isolierung gebracht werden.

II. Naturlab.

Im Gegensatz zu den Kunstlabprodukten, durch welche die Milch beim „Einlaben" keine Bereicherung an nützlichen Bakterien, speziell Milchsäurebakterien, erfährt, steht das Naturlab. Dieses wird heute noch fast durchweg in der Schweiz und oft überall da angewandt, wo es sich um Herstellung des Schweizer oder Emmentaler Käses handelt.

Im folgenden wird die Herstellung des sogenannten Schweizer Naturlabes beschrieben unter hauptsächlicher Berücksichtigung der hieraus isolierten Milchsäurebakterien.

1. Ausgangsmaterial.

Als Ausgangsmaterial dienten zwei Mägen von 4 Tage alten Milchkälbern. Diese stammten aus Schleswig-Holstein. Nach dem Schlachten der Tiere wurden die Mägen sofort nach der üblichen Weise bearbeitet. Dann wurden sie rasch abgetrocknet. Schon äußerlich war zu erkennen, daß es sich um Mägen noch saugender Tiere handelte. Im Vergleich zu anderen, auch zur Labbereitung dienenden Mägen waren sie fast fettfrei, sehr faltenreich und zart.

2. Versuchsanordnung bei der Herstellung des „Schweizer Naturlabes".

Die trockenen Mägen wurden äußerlich gereinigt und kleingeschnitten. Dann wurden frische Molken in einem Gefäß auf 74° C erhitzt. Da bei dieser Temperatur das Eiweiß noch nicht coaguliert war, gab ich eine Spur Säure hinzu, worauf sich das Eiweiß sofort

ausschied. Nach dem Absetzen wurde vollkommen klar abfiltriert. Diese „geschottete Molke" von ca. 26—28° C wurde in 5 Ansatzkölbchen verteilt und die kleingeschnitzelten Mägen zugegeben.

Aufbewahrt wurde

Ansatz I bei Zimmertemperatur (20°),
„ II „ 30°
„ **III** „ **37°**
„ IV „ 45°
„ V „ im Kühlraum (8 – 10°).

Ich wählte die genannten 5 Temperaturen, um bei dem Versuch zugleich festzustellen, bei welcher Temperatur nur Milchsäurebakterien zur Entwicklung gelangen. In der Praxis wird der Labansatz fast durchweg bei 37° aufgestellt. Am 2. Tage wurden die 5 Ansätze von den Mägen klar abgegossen und die Filtrate zur weiteren Untersuchung aufbewahrt. Das Lab ist jetzt gebrauchsfertig und wird auf die Labstärke geprüft. Man kann zwei- oder dreitägiges Lab verwenden. Normales Lab ist nach 3 Tagen reiner, betriebssicherer und reicher an Langstäbchen.

Normales Lab soll 40—50 Säuregrade nach Soxhlet (S.-H.) haben, überreifes hat 70—80 S.-H., unreifes Lab hat 18—25 S.-H.

Ansatz I hatte 21 S.-H.
„ II „ 32 „
„ **III** „ **46** „
„ IV „ 42 „
„ V „ 19 „

Ansatz III (37°) hat 46 S.-H., ist also normal.

Am 3. Tage wurden mit den 5 Labansätzen Anreicherungen, in Würze bei 30, 37 und 45°, in Bouillon bei Zimmertemperatur, 30, 37 und 45°, in Peptonmilch bei Zimmertemperatur, 30, 37 und 45° und in Maische bei Zimmertemperatur, 30, 37 und 45° angelegt. Nach 24stündiger Bebrütung wurden dann in den entsprechenden Agarnährsubstraten Plattenkulturen und in Burriröhrchen (anaërobe Verhältnisse) mit Würzeagar und Milchzuckeragar anaërobe Kulturen angelegt.

Es konnten 60 Organismenstämme isoliert werden (s. Tabelle 12).

Die isolierten Organismenstämme setzten sich zusammen aus:

a) 5 Hefen, die sich als ein und dieselbe harmlose Torula-Art erwiesen;

b) 10 Coli, aus Ansatz I und V. Diese Stämme konnten als Coli commune „Escherich" identifiziert werden.

Ansatz II, III und IV enthielten kein Coli.

Tabelle 12.

Ansatz	Temperatur	I	II	III	IV	V
Würzeagar	30°	1	2	1	1	—
„	37°	—	—	2	3	—
„	45°	—	—	3	1	—
Bouillonagar	Z. T.	4	2	—	—	1
„	30°	2	2	—	—	3
„	37°	2	3	—	—	2
„	45°	—	1	—	—	—
Milchzuckeragar	Z. T.	—	—	—	—	—
„	30°	2	1	2	3	—
„	37°	1	—	4	3	1
„	45°	—	2	2	2	—

c) 19 Sporenbildnern, die sich in der Hauptsache aus der Mesentericus-, Mycoides- und Subtilisgruppe zusammensetzten.

d) 25 Milchsäurebakterien aus Ansatz III und IV. Diese wurden näher untersucht.

e) 1 Stamm Mycoderma cerevisiae.

3. Beschreibung der isolierten Milchsäurebakterien.

Die Stämme wurden der Reihe nach von 1 bis 25 benannt. Ihre Beschreibung in tabellarischer Zusammenstellung siehe folgende Seiten.

Zu ihrer Bestimmung wurde 1. das Verhalten in Milch bzw. die Optimaltemperatur für die Dicklegung und 2. das Verhalten Kohlehydraten und dgl. gegenüber zugrunde gelegt.

Die Bestimmung dieser 25 Milchsäurebakterienstämme wurde mit Hilfe der Tabelle „Milchsäurebakterien-Übersicht nach Orla Jensens Beschreibungen" (Zusammenstellung Henneberg) durchgeführt. Bei einigen Stämmen konnte die Art nicht mit Sicherheit angegeben werden, da sich speziell beim Verhalten Kohlehydraten gegenüber größere Abweichungen bemerkbar machten. Dieselben Beobachtungen machte Thöni bei seinen aus Labmägen isolierten Milchsäurebakterien. Die Versuche mit Kohlehydraten wurden mit 2% Lösungen—Lackmus als Indikator — durchgeführt.

Stamm 1, 2 und 3 können als Variante von Thermobacterium lactis angesehen werden. Oberflächenwachstum war auch nach längerer Zeit sehr spärlich, in Burriröhrchen gediehen gute Kolonien. Das Temperaturoptimum lag bei 40°. Es waren Stäbchen häufig zu 2 und 3, deren Größe oft variierte (14—60 : 0,6). In Nährsubstraten, Würze und Maische konnte zuerst Trübung mit leichtsandigem Boden-

satz beobachtet werden. Dauer der Trübung etwa 4 Tage. Stamm 2 und 3 legten die Milch erst auf Peptonzusatz unter leichter Gasbildung dick.

Gesäuert wurden: Dextrose, Galaktose, Mannose, Rohrzucker, Malzzucker, Milchzucker, Raffinose, Dextrin und Casein. Im Gegensatz zu Orla Jensens Tabelle wurde bei diesen drei Stämmen Stärke, Inulin, Mannit und Salizin äußerst wenig oder gar nicht gesäuert. Gelatine wurde nicht verändert. Säuremaximum in Milch 0,9—1 %.

Stamm 4. Oberflächenwachstum war nur in Spur zu beobachten, etwas anaërob gediehen gute Kolonien. Gelatine wurde nicht verändert. In flüssigen Substraten war nach 24 Stunden gleichmäßige Trübung mit dicklichem Bodensatz zu beobachten, die etwa 6 Tage anhielt. Es waren mittelgroße Stäbchen, oft in Diploform, und Ketten (0,8—65 : 0,5). Milch wurde am 2. Tage bei 37° (Optimum) glatt mit klarem Molkenaustritt dickgelegt. Säuremaximum betrug in Milch 1,4 %.

Gesäuert wurden stark: Arabinose, Dextrose, Galaktose, Mannose, Rohrzucker, Malzzucker, Milchzucker, Raffinose, Dextrin, Inulin; weniger: Glycerin und Casein. Nicht gesäuert wurden: Xylose, Rhamnose, Stärke, Mannit, Sorbit und Salizin. Casein wird nicht zersetzt. Dieser Stamm hält die Mitte zwischen Streptobacterium plantarum und Streptobacterium casei.

Stamm 5. Das Oberflächenwachstum war mittelmäßig, in flüssigen Substraten war zuerst starke Trübung mit leicht flockigem Bodensatz zu merken. Dauer der Trübung etwa 10 Tage. Es waren Stäbchen, oft in Diploform und zu Ketten vereinigt, deren Größe variierte (0,9—3 : 0,5). Milch wurde bei 40° glatt mit klarem Molkenaustritt dickgelegt. Säuremaximum betrug in Milch 0,95 %.

Gesäuert wurden stark: Arabinose, Dextrose, Galaktose, Mannose, Rohrzucker, Malzzucker, Milchzucker, Raffinose, Dextrin, Inulin, Mannit; weniger gesäuert wurden: Xylose, Rhamnose, Glycerin und Casein; nicht gesäuert: Stärke und Sorbit.

Nach diesem Verhalten kam Streptobacterium plantarum in Frage. Vorliegender Stamm weicht insofern etwas ab, als bei Stärke und Sorbit keine Säuerung nachzuweisen war, während nach Orla Jensen Streptobacterium plantarum diese leicht säuert.

Stamm 6 dürfte sich mit Stamm 4 ziemlich decken. Glycerin vergärt er gar nicht. Die Größenverhältnisse und sonstigen Eigenschaften sind dieselben.

Er hält etwa auch die Mitte zwischen Streptobacterium plantarum und casei.

Stamm 7 wächst in Plattenkultur nicht. In flüssigen Substraten tritt gleichmäßige Trübung ein, mit feinem Bodensatz. Die Milch dickt am 9. Tage bei 37°, während bei 30° und bei 45° keine Dicklegung erfolgt. In Tropfenkultur bildet er bei 37° sehr lange, teilweise geknickte Zellfäden. Maximum der Säurebildung 1,6%.

Stark gesäuert werden: Galaktose, Milchzucker und Casein; schwache Säuerung bei Mannose. Bei den übrigen Zuckern usw. keine Säuerung.

Dieser Stamm hat sehr große Ähnlichkeit mit Thermobacterium Joghurt und Th. bulgaricum. Da keine Volutinkörnchen nachgewiesen werden konnten, spricht er mehr für Thermobacterium Joghurt. Durch seine gegen Thermobacterium Joghurt (2,7 %) schwächere Säuerung (1,6%) muß er doch als Zwischenstufe betrachtet werden.

Stamm 8. Oberflächenwachstum in Spur. In flüssigen Substraten mittlere Trübung mit leichtem Satz. Stellt meist Diplokokkenstäbchen, oft in kürzeren Ketten, dar (0,6—1,0 : 0,45). Milch wird bei 45° am 2. Tage glatt dickgelegt mit etwas trübem Molkenaustritt. Säuremaximum in Milch 2%.

Stark gesäuert werden: Galaktose, Rohrzucker, Milchzucker, Malzzucker, Raffinose, Dextrin, Inulin, Sorbit, Salizin, Casein; schwache Säuerung: Mannose; keine Säuerung: Arabinose, Xylose, Rhamnose, Stärke, Glycerin und Mannit.

Er dürfte als Variation (?) von Thermobacterium lactis angesehen werden. Die Nichtsäuerung von Stärke und Mannit wäre als Abweichung zu verzeichnen.

Stamm 9, 13, 16 und 25 sind höchstwahrscheinlich Thermobacterium (Casei ε) helveticum. Bei allen vier Stämmen war Oberflächenwachstum nur in Spur vorhanden. Anaërob gediehen gut abimpfbare Kolonien. In flüssigen Substraten war eine gleichmäßige Trübung zu beobachten. Stamm 9 legte die Milch bei 45° am 3. Tag, Stamm 13 und 16 erst am 4. Tage nach Peptonzusatz, Stamm 25 am 2. Tag dick. Das Säuremaximum betrug 2,6%. In Tropfenkultur waren es größere Stäbchen, die in der Größe ziemlich variierten (0,9—18 : 0,45).

Stamm 9 säuerte stark: Malzzucker, Milchzucker und Casein, weniger: Mannose, Dextrin; die übrigen Zucker wurden nicht gesäuert. Stamm 13 säuerte noch Raffinose und Stärke, Stamm 16 Inulin und Sorbit, Stamm 25 Salizin.

Bei sämtlichen 4 Stämmen konnte Schleimbildungsvermögen nicht nachgewiesen werden, während bei diesen vier Stämmen Eiweißabbau festgestellt werden konnte.

Stamm 10. Wiederum in Plattenkultur nicht zu bekommen. Dagegen gelang es, in Burriröhrchen Reinkulturen zu erhalten. In flüssigen Substraten außer Milch war gutes Wachstum zu beobachten. Milch wurde nicht dickgelegt. Es waren dünne, ziemlich langgestreckte Zellen, oft zu 2 und 3 zusammen und dann bisweilen geknickt. Die Größe der einzelnen Zellen variierte sehr stark (1,5—42 : 0,5—0,9).

Stark gesäuert wurden: Rohrzucker, Malzzucker, Raffinose, Dextrin und Casein; weniger: Galaktose und Salizin. Nicht gesäuert wurden: Milchzucker und die übrigen. Dieser Stamm hat sehr große Ähnlichkeit mit dem von Henneberg eingehend beschriebenen Heißeinsäuerungspilz für Futtereinsäuerung, Thermobacterium cereale = Bacterium Delbrücki. Im Gegensatz zu den letzten 4 Stämmen konnte hier kein Eiweißabbau beobachtet werden. Säuremaximum in Milch 1,4%.

Stamm 11 bildet weißliche Kolonien in Plattenkultur. In flüssigen Substraten mäßige Trübung mit Flocken, die oft an der Glaswandung des Kulturgefäßes haften. Es sind teilweise größere Stäbchen, oft zu kürzeren oder längeren Ketten zusammengelagert. Größe der einzelnen Zellen verschieden (1,5—1,9 : 0,9). Zellen teilweise gebogen. Milch wird am 2. Tag bei 45° dickgelegt (Säuerungsmaximum 1,0%).

Gesäuert werden: Galaktose, Mannose, Rohrzucker, Malzzucker, Milchzucker, Raffinose, Dextrin, Mannit, Sorbit, Casein und Dextrose; wenig: Arabinose, Rhamnose, Stärke, Inulin, Glycerin und Salizin.

Dieser Stamm hat große Ähnlichkeit mit Bacterium Maerckeri (Henneberg). Nur das Nichtsäuerungsvermögen von Arabinose ist unterscheidend.

Stamm 12, 14 und 15 treten wieder in nahe Verwandtschaft mit Stamm 4, 5 und 6; sie stehen ebenfalls wie diese zwischen Streptobacterium plantarum und casei. Säuremaximum in Milch 1,3%.

Bei Stamm 17, 20, 21 und 22 fehlt wiederum das Oberflächenwachstum. In flüssigen Substraten war flockige Trübung, die 10 Tage anhielt, festzustellen. Es waren mittelgroße Stäbchen (2—4 : 0,5), oft in langen Ketten, die später auseinanderfallen.

Ihrem Verhalten nach können diese Stämme zu den Betabakterien gerechnet werden. Und zwar neigen Stamm 17 und 20 zu Betabacterium breve (Bacterium casei gamma), dadurch charakterisiert, daß Arabinose nicht gesäuert wird, im Gegensatz zu Stamm 21 und 22, die mehr als Betabacterium longum (früher Bacterium casei delta) betrachtet werden müssen und Arabinose säuern. Gegenüber den anderen Zuckerarten verhalten sich diese 4 Stämme fast gleich. Säuremaximum in Milch 1,1—1,2%.

Stamm 18, ein Streptococcus, zeigt ein eigenartiges Verhalten: Wachstum in Plattenkultur mäßig gut. In flüssigen Substraten leichte Trübung. In Milch ist schwaches Wachstum wahrzunehmen, er säuert die Milch nur sehr wenig. Den verschiedenen Zuckerarten gegenüber verhält er sich wie folgt: stark gesäuert werden nur Rohrzucker und Xylose; schwach gesäuert werden Inulin und Sorbit, Traubenzucker und Milchzucker. Die übrigen Zuckerlösungen bleiben unverändert. Er wächst bei fast allen Nährsubstraten sehr langsam, meistens in Kettenform bis höchstens zu 8 Gliedern.

Eine Gruppenzugehörigkeit konnte hier nicht festgestellt werden.

Stamm 19, ebenfalls ein Streptococcus, der fast nur in Diploform anzutreffen ist. Nach dem Säuerungsvermögen der einzelnen Zuckerarten kommt hier eine Form von Streptococcus lactis in Frage. Vorliegender Stamm legt die Milch bei 37° in 3 Tagen dick. Gesäuert werden: Arabinose, Xylose, Galaktose, Mannose, Malzzucker, Milchzucker, Raffinose, Stärke, Dextrin, Inulin, Mannit, Sorbit, Salizin und Casein. Nicht gesäuert werden: Rohrzucker, Rhamnose und Glycerin. Säuremaximum in Milch 1,5%.

Stamm 23 fehlt das Oberflächenwachstum. In flüssigen Substraten leichte Trübung. Optimum liegt bei 45°. Milch wird bei dieser Temperatur sehr rasch dickgelegt (2,45% Säuremaximum).

Gesäuert wird stark Rohrzucker, weniger: Malzzucker, Stärke, Dextrin, Salizin und Casein; bei den übrigen Zuckerarten keine Säuerung.

Dieser Stamm kann eindeutig als Streptococcus thermophilus identifiziert werden.

Stamm 24 zeigt schon unter dem Mikroskop das deutliche Bild von Streptococcus cremoris, was noch durch das Säuerungsvermögen der verschiedensten Zuckerarten bestätigt wird. Säuremaximum in Milch 0,3%.

C. Versuche zur Lab-„Entkeimung".

Wir haben im vorigen gesehen, daß das Kunstlab Mikroorganismen enthält. Wir fragen uns, ob es nicht möglich wäre, ein steriles, d. h. keimfreies Lab herzustellen.

In dieser Hinsicht wurden schon sehr viele Untersuchungen angestellt. Sie ergaben alle keine brauchbaren Resultate. Vor allem konnte daraus für die Praxis kein Nutzen gezogen werden. Man darf

eben nicht vergessen (wie schon erwähnt), daß das Lab ein Enzym ist. Als solches ist es gegen äußere Einflüsse, seien diese chemischer oder physikalischer Natur, äußerst stark empfindlich. Dies hat zur Folge, daß die „Entkeimung" des Labes sehr schwierig erscheint.

1. Einfluß von Licht.

Eine Entkeimung des Labes durch Licht kann deshalb nicht in Frage kommen, weil es eine stark zerstörende Wirkung auf das Lab selbst ausübt (auch nach Lafar II p. 261). Schmidt und Nielsen (23) schreiben diese schädliche Wirkung des Lichtes den ultravioletten Strahlen zu. Daraus kann man schließen, daß einer Sterilisation von Lab durch ultraviolette Strahlen keine Bedeutung zugemessen werden kann. David J. Macht (24) jedoch konnte feststellen, daß polarisiertes Licht die Wirkung des Labes sowie der Takadiastase verstärkte. Aber eine Entkeimung durch dieses Licht ist ebenfalls unmöglich, da polarisiertes Licht eine bakterienabtötende Wirkung nicht hervorruft.

2. Einwirkung von Feuchtigkeit.

Weiter konnte ich an Hand eigener Untersuchungen feststellen, daß das Lab durch Feuchtigkeit sehr leidet.

Versuch: Ein Pulverlab, dessen Stärke und Keimzahl genau bestimmt waren, stellte ich offen in einen sehr feuchten Kellerraum. Nach 4 Tagen beobachtete ich, was ja selbstverständlich ist, 1. ein Zunehmen der Keimzahl und 2. ein Abnehmen der Labstärke. Die Keimzahl, die zu Anfang rund 15 000 Keime betrug, war nach 14 Tagen schon auf 17 500 angestiegen, während die Labstärke von 1 : 95 000 auf 1 : 88 500 gefallen war. Nach 4 Wochen betrug die Keimzahl 20000, die Labstärke 1 : 83 000.

Hieraus ergibt sich der schädliche Einfluß von feuchter Luft auf Lab. Deshalb muß das Lab besonders gut gegen die Einwirkung von Feuchtigkeit geschützt werden, weil andernfalls die große Gefahr einer Vermehrung der Labinfektionspilze besteht.

3. Einfluß von Wärme.

Gegen Erwärmung, hauptsächlich über 40° ist, das Lab äußerst empfindlich. Bei abnehmender Temperatur wird die Labwirkung langsam geschwächt. So braucht Milch bei 25° auf Labzusatz be-

reits 180 Minuten zur Dicklegung. Die Optimaltemperatur für die größte Labwirkung liegt etwa bei 38—40°.

Bei Temperatursteigerung bemerken wir ein schroffes Abfallen der Labwirkung, und schon bei 44,5° können wir sie gleich 0 setzen.

Da meine Untersuchungen ergaben, daß die Labinfektionspilze vorwiegend aus Sporenbildnern bestehen, die Sporen aber hitzeresistent sind, ist eine Entkeimung durch Wärme bei der praktischen Verwendung des Labes bedeutungslos.

Hieraus erkennt man also, daß eine Sterilisierung von Lab durch Wärmeanwendung vollkommen ausgeschlossen erscheint.

Baumann (3) versuchte, die Sterilisierung durch Erhitzen von Lab durchzuführen. Er erzielte durch 5—6 mal wiederholtes, je $4^1/_2$ stündiges Erwärmen von Lab auf 58—59° ein keimfreies Präparat. Er hatte jedoch bei diesem Verfahren mit einem Verlust von rund 50% an Labstärke zu rechnen, wonach diesem Verfahren keine Bedeutung für die Praxis zugemessen werden kann.

Wir können also nach den Erfahrungen über die Beeinflussung durch Licht, Feuchtigkeit und Wärme auf Lab sagen, daß es sehr ratsam erscheint, Labpräparate an lufttrockenem, kühlem Ort verschlossen und vor Licht geschützt aufzubewahren. Nach Einhaltung dieser Vorsichtsmaßregeln kann man mit Bestimmtheit annehmen, daß sich das Lab bzw. seine Labstärke kürzere Zeit wenigstens unverändert hält und eine sekundäre Infektion nach den bisher gemachten Erfahrungen dadurch auf ein Minimum beschränkt wird.

4. Einwirkung von Chemikalien.

Gegen chemische Einflüsse verhält es sich ähnlich wie gegen physikalische. In der Literatur finden sich hierüber sehr viele nähere Beschreibungen. Einzelne Chemikalien verlangsamen die Labwirkung, während durch andere völlige Zerstörung herbeigeführt wird.

So wirken z. B. Borax, Borsäure! (in größeren Mengen), Fluornatrium, Kaliumbichromat, Thymol, Salol, Formaldehyd in größeren Mengen stark schädlich und beeinträchtigen die Labwirkung ganz erheblich. Bei Anwendung von Sublimat bis 0,1%, Silbernitrat bis 0,1%, Zimtsäure bis 0,1% konnte nur eine Verzögerung der Labwirkung nachgewiesen werden.

Dagegen waren benzoesaures Natrium, Thymol bis 0,1%, Salizylsäure, Carbolsäure 0,5—1%, Chloroform einer Labwirkung nicht hinderlich. Natronlauge und Fluornatrium von 0,5% an verhinderten die Wirkung vollkommen.

Aus diesen Tatsachen können wir ersehen, daß Chemikalien für die Labsterilisierung ebenfalls von geringer Bedeutung sind. Wir dürfen nicht vergessen, daß nach bestehenden Reichsgesetzen nur eine ganz bestimmte Anzahl von Chemikalien zur Konservierung von Nahrungsmitteln verwendet werden dürfen. Das Lab wird auch als Nahrungsmittel angesehen.

Meine Untersuchungen haben allerdings ergeben, daß die Labpräparate E und G (siehe Seite 5) keimfrei sind. Ich konnte aber trotz chemischer Analyse die Ursache hier nicht ermitteln und muß sie auf Herstellungsgeheimnisse der betreffenden Fabriken zurückführen.

v. Freudenreich (7) versuchte ebenfalls keimfreies Lab zu erhalten. Bei ihm bewährten sich aber sämtliche Antiseptika bis auf Formaldehyd nicht.

Die Milchgerinnung konnte durch Zusatz von Chloroform nicht verhindert werden, sie ging aber wesentlich langsamer vonstatten. Auch Wasserstoffsuperoxyd erwies sich bei 4% als sehr günstig. Über die Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf das Lab berichtet in neuester Zeit eingehend Mundinger (16). Nach ihm zerfallen verdünnte Lösungen von H_2O_2 bei Gegenwart von Lab unter Sauerstoffentwicklung ziemlich schnell. Dementsprechend wirkt das Lab als Katalase. Hieraus ist zu ersehen, daß Chemikalien eher eine zerstörende Wirkung auf das Lab hervorrufen, als die Labinfektionspilze abzutöten.

5. Filtrationsversuche.

v. Freudenreich (7) stellte Versuche zur Entfernung der Keime an, indem er das Lab durch Chamberlinkerzen filtrierte. Er erhielt hierbei sehr befriedigende Resultate.

So versuchte ich ebenfalls ein Lab, dessen Stärke mir bekannt war, mittels Ultrafiltration keimfrei zu bekommen. Leider filtrierte die Flüssigkeit nur sehr langsam. In 5 Tagen waren etwa nur 15 ccm hindurchgelaufen. Im Filtrat, das sich vollkommen keimfrei erwies, war eine Abnahme an Labstärke nachzuweisen. Während das unfiltrierte Lab die Labstärke 1:9500 besaß, war diese im Filtrat auf 1:8450 zurückgegangen.

6. Dialysierverfahren.

Rostock (17) arbeitete hauptsächlich mit Pepsin und Trypsin. Diese enthalten vielfach Saprophyten, die meistens aber harmloser Natur sind. Die Präparate sind daher nicht haltbar. Um diese Bakterien abzutöten, wurde bisher einfach Jod und Salzsäure benutzt.

Rostock stellte nun mittels Jodonaszin ein steriles Fermentpräparat her: Jodonaszin stellt einen chemisch anorganischen Körper dar, der Na-Jod-Jodat-Chlor- und Sulfat-ionen enthält und in Lösung beim Zusammentreffen mit Säure freies Jod abspaltet.

Er dialysierte eine mit Jodonaszin versetzte Fermentlösung mit sterilem Wasser, bis kein Jod mehr im Dialysat nachzuweisen war, dampfte dann unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln im Vakuum ein. Auf diese Weise erhielt er ein steriles keimfreies Präparat.

Dieses Resultat veranlaßte mich, dasselbe zur Labsterilisierung zu versuchen.

1. Versuch: Als erster Versuch diente mir ein Labfermentauszug, dem 1 % Jodonaszin zugesetzt war. Den Labauszug stellte ich aus zwei Labmägen, denen 1000 ccm Wasser, 5 % Kochsalz, 7 % Alkohol und $^1/_2$ % Salzsäure zugegeben waren, her (analog der früher beschriebenen Herstellung von flüssigem Lab). Ich dialysierte das Gemisch, brachte es unter sterilen Bedingungen in ein Vakuum und dampfte zur gewünschten Konzentration ein.

Die Labstärke ergab ohne Jodonaszin 1 : 7500
„ „ „ mit „ 1 : 100!

2. Versuch: Dieser sollte nochmals feststellen, welche Veränderung die Labstärke bei dem Dialysierverfahren erleidet.

Um hierüber Aufschlüsse zu bekommen, ging ich von einem fertigen flüssigen Labpräparat aus. Seine Labstärke sowie seine Keimzahl waren bekannt. Ich versetzte 25 ccm mit der nötigen Menge Jodonaszin, gab etwas Salzsäure noch zu, daß das Jod eben noch in Freiheit gesetzt wurde. Ich ließ dieses Gemisch so lange gegen steriles Wasser dialysieren, bis im Dialysat kein Jod mehr nachzuweisen war. Hierauf bestimmte ich die Labstärke.

Vor der Dialyse: 1 : 3500.

Nach der Dialyse: Nach 9 Minuten war noch keine Labgerinnung eingetreten, erst nach direkter Wärmezufuhr erfolgte Dicklegung.

Keimzahl: pro ccm 3000 Keime (nur Sporenbildner). Dreimaliges Wiederholen des Versuchs ergab dasselbe negative Resultat.

Anreicherungen von Sporenbildnern in Bouillon mit einem P_h-Gehalt von 6,6 ergaben nach Zusatz von Jodonaszin, daß sämtliche vegetative Bazillen abgetötet waren. Eine schädliche Wirkung auf die Sporen oder gar Abtötung derselben konnte nicht nachgewiesen werden.

Meine Beobachtungen kann ich in folgender Weise zusammenfassen:

1. Das Labferment erleidet durch das Jod im statu nascendi eine Zersetzung. Diese bedingt, daß das Lab seine michdicklegende Eigenschaft einbüßt: nach Mischen der Lablösungen mit Jodonaszin tritt in sämtlichen Fällen früher oder später eine Fällung auf. Sobald diese eingetreten ist, ist das Lab wirkungslos.

2. Mikroorganismen werden von Jod abgetötet bis auf die Sporen, die in geeigneten Nährsubstraten wieder zur Entwicklung gelangen können.

Schlußwort.

Zusammenfassung und Ergebnis vorliegender Arbeit und ihre Bedeutung für die Milchwirtschaft.

1. In sehr vielen Kunstlabpräparaten sind Mikroorganismen vorhanden. Der Hauptsache nach bestehen diese aus äroben Sporenbildnern und vereinzelt vorkommenden Hefen.

Die Sporenbildner setzen sich aus der Mycoides-, Subtilis- und Mesentericusgruppe zusammen; die Hefen aus harmlosen Rosahefen und Torulaarten, die nicht schädlich sind.

Fast alle Sporenbildner greifen das Kasein der Milch stark an und zersetzen es teilweise bis zum Ammoniak. Die Milch wird daher frühzeitig peptonisiert, wobei sie einen bitteren, schlechten Geschmack erhält.

Nur ein Stamm (25) läßt die Milch äußerlich unverändert. Alle Mycoides- und viele Mesentericusarten greifen das Fett rasch und energisch an.

Für die Käsereifung sind die aërob sporenbildenden Bazillen in der Regel von geringer Bedeutung, da sie durch den hohen Säuregrad im Käse und durch die kühlere Temperatur während der Käsereifung beeinträchtigt und leicht von anderen Arten, speziell Milchsäurebakterien, verdrängt werden.

Auffallend ist das gänzliche Fehlen von Milchsäurebakterien in den von mir untersuchten Kunstlabpräparaten.

Direkte Käseschädlinge (Coli und Fluoreszenz) waren in keinem Falle nachzuweisen. Bei flüssigem Lab kann bei ungeeigneter Aufbewahrung ein „Verschimmeln" auftreten. Solche Präparate sind selbstverständlich untauglich.

Sämtliche isolierten „Labinfektionspilze“ müssen als primäre Infektion angesehen werden, d. h. sie sind schon im Labmagen vorhanden und überdauern, wie auch schon durch Versuche nachgewiesen wurde, die Labherstellung. Sie können in Weichkäsen, die nicht zu stark gepreßt und somit leichter von Luft durchdrungen werden, zur Entwicklung gelangen, sofern nicht genügend freie Säure vorhanden ist. Die Sporenbildner des Labes spielten bei der Herstellung von Labkäse aus steriler Milch eine verderbliche Rolle. Es kann sich bei sehr langer Reifung des Weichkäses auch die kleinste Infektion schließlich auswirken.

Bei der Käsebereitung erfährt die Milch beim Einlaben mit Kunstlab keine nennenswerte Bereicherung an Mikroorganismen, da z. B. bei einer Labstärke von 1 : 100000 und einer Keimzahl von 150000 pro g eines Labes die einzulabende Milch auf 10 Teile 15 Keime erhält.

2. In den zur Labherstellung benutzten Kälberlabmägen kommen sehr viele Organismengruppen vor. Jedoch kommt es hierbei sehr auf das Alter und die Beschaffenheit der Mägen an.

Vielfach wird nach meinen Feststellungen bei der Zubereitung der Mägen frischgeschlachteter Tiere nicht immer die notwendige Sorgfalt verwandt:

1. Es bleiben die Mägen teilweise vor der Zubereitung zu lange liegen, und
2. es werden nicht immer nur die Mägen von Milchkälbern verwandt.

Das hat zur Folge, daß nicht nur die Labausbeute geringer wird, sondern auch die Infektionsgefahr an Käseschädlingen hierdurch bedeutend erhöht wird.

3. Bei der Herstellung des sogenannten Naturlabes kommt es in der Hauptsache darauf an, daß nur einwandfreie Mägen zur Anwendung gelangen. Im vorliegenden Falle konnten außer Sporenbildner (subtilis und mesentericus), Torulahefe (unschädliche Art), Saracina lutea, Mycoderma cerevisiae 12 Arten von Milchsäurebakterien isoliert werden.

Die Keimzahl (die in diesem Falle 750000 im ccm^3 betrug) trägt dazu bei, daß die Milch eine Bereicherung an nützlichen Milchsäurebakterien erfährt, vorausgesetzt, daß vorschriftsmäßig und sauber gearbeitet wird.

Die Milchsäurebakterienstämme setzten sich in den Anreicherungen wie folgt zusammen:

Thermobacterium lactis	4 Stämme
Streptobacterium plantarum	1 Stamm
Arten zwischen Streptobacterium plantarum und casei	5 Stämme
Arten zwischen Thermobacterium Yoghurt und Th. bulgaricum	1 Stamm
Thermobacterium helveticum	4 Stämme
Bacterium Delbrücki	1 Stamm
Bacterium Maerckeri (Henneberg)	1 Stamm
Arten zwischen Betabacterium longum und breve	4 Stämme
Streptococcus lactis	1 Stamm
Streptococcus thermophilus	1 Stamm
Streptococcus cremoris	1 Stamm
ein vorläufig noch unbestimmbarer Streptococcus	

Hierbei ist besonders bemerkenswert, daß die im Schweizerkäse immer vorkommenden Arten Thermobacterium helveticum und Streptococcus thermophilus auch aus einem selbstangefertigten Naturlab isoliert werden konnten.

Eine Bereicherung der Milch an diesen Milchsäurebakterien ist für die Schweizerkäsebereitung sehr wünschenswert.

4. Die Versuche zur „Entkeimung" des Labes ergaben:

a) Durch Bestrahlung (speziell ultraviolettes Licht) wird das Labenzym zerstört.

b) Feuchtigkeit wirkt sehr nachteilig auf das Lab. (Abnahme der Labstärke und Zunahme der Keimzahl durch „Sekundärinfektion".)

c) Erhitzung des Labes zur Entkeimung erscheint ausgeschlossen, da die normale Labwirkung an eine Temperatur zwischen 30°—40° C gebunden ist.

d) Chemikalien üben in der Regel eher eine zerstörende Wirkung auf das Labenzym selbst aus, als das Lab zu entkeimen. Eine Entkeimung des Labs mit den angegebenen Mitteln erscheint in der Praxis fast unmöglich. Nur zwei Kunstlabpräparate erwiesen sich als keimfrei.

e) Filtrationsversuche waren befriedigend, lassen sich jedoch für die Praxis nicht verwerten.

f) Durch Jod (bei der Dialyse mit Jodonaszin) wird das Labenzym zerstört.

Zum Schluß mag im Interesse der Praxis nochmals betont werden, daß es sehr ratsam ist, möglichst frische Kunstlabpräparate (Pulver- oder Tablettenform) zu verwenden und in nicht zu großen Mengen und vor allem nicht in feuchtem Käsekeller aufzubewahren. Hierbei ist besonders darauf zu achten, daß die Gefäße nach jedem Gebrauch gut verschlossen sein müssen, wenn nachträgliche Infektionen verhindert werden sollen.

Am Schlusse dieser Arbeit möchte ich nicht unterlassen, Herrn Prof. Dr. Henneberg für die freundliche Überlassung des Themas sowie für seine Ratschläge und Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Allemann, Untersuchungen über Kunst- und Naturlab. Molkereizeitung, Berlin, 1913, p. 505 ff. — 2. Aufsberg, Labherstellung. Mittlg. d. Milchwirtschaftl. Vereinig. im Allgäu 1906 p. 31. — 3. Baumann, Beiträge zur Labsterilisierung (Löhnis) p. 409; Zentralbl. II Bd. 4, 1910, p. 310. — 4. Benecke u. Cohn, Untersuchungen von Naturlabpräparaten. Lafar II, 1920, p. 261. — 5. Burr, Über Lab und Labpräparate. Chem. Zeitg. 1908 Nr. 25. — 6. v. Freudenreich und Jensen, Beiträge zur Mikroflora im Labmagen. Zentralbl. II Bd. 3, 1910, p. 545. — 7. v. Freudenreich, Beiträge zur Kenntnis der Wirkung des Labfermentes (Chemikalien). Zentralbl. II Bd. 4, 1910, p. 311. — 8. Gerber, Labähnliche Stoffe in Pflanzen. Rev. gén. du Lait, 1907, Heft 16. — 9. Hammarsten, Lab bei verschiedenen Tieren. Jahresbericht f. Tierchemie, 1874, p. 134; 1876, p. 119. — 10. Herz, Untersuchungen von Naturlabpräparaten. Lafar II, 1920, p. 261. — 11. Javillier, Labähnliche Stoffe in Pflanzen. Rev. gén. du Lait, 1902, p. 534. — 12. v. Kleckt, Labähnliche Stoffe in verschiedenen Pflanzensäften. Österr. Molkereizeitg. Bd. IV, 1897/98, p. 109, 123, 134, 143. — 13. Koch, Beiträge zur Mikroflora im Labmagen. Lehrb. f. Gärungsorganismen, 1909, p. 403. — 14. Köstler, Beiträge zur Mikroflora im Labmagen. Zentralbl. II, Bd. 19, 1917, p. 394. — 15. Löhnis, Beiträge zur Mikroflora im Labmagen. Lehrb. d. Landw. Bakteriologie, 1926, p. 334. — 16. Mundinger, Beiträge zur Kenntnis der Labwirkung. Milchwirtsch. Forsch. 1927. — 17. Rostock, Herstellung keimfreier Fermentpräparate. Ferm. Forsch., Nr. 9, 1926, Bd. I. — 18. Sörensen, Enzymstudien. Biochem. Zeitg. Bd. 7, 1908, p. 71 ff. — 19. Thöni, Spezielle Angaben über die Mikroflora im Labmagen der Kühe. Landwirtsch. Jahrb. f. d. Schweiz Bd. 20, 1906, p. 181. — 20. Vieth, Labähnliche Stoffe in Trithania coagulans. Forsch. a. d. Geb. d. Viehh. Heft 15, 1908, p. 345. — 21. Labherstellung: 1. Milchwirtsch. Forsch. II, 1925, p. 345; 2. Lafar II, 1920, p. 139; Gewinnung von Kunstlab nach Soxhlet, Hammarsten u. a.; 3. Zentralbl. II Bd. 19, 1907, p. 592. — 22. Teichert und Stockert, Berichte über Lab. Wangen, Allgäu 1922. — 23. Schmidt-Nielsen, Einwirkung von Licht auf Lab. Molkerei-Ztg. Berlin 1905, 401. — 24. David J. Macht, Wirkung von polarisiertem Licht auf Enzym. Chem. Zentralbl. I, 1926, S. 3241. — 25. Pawlowsky und Zaykowsky, Bildung von Lymphe bei neugeborenen Kälbern. Chem. Zentralbl. II, 1926, 232.

Lebenslauf.

Ich, Walter Schwarz, evangelischer Konfession, wurde am 13. Juni 1902 zu Ulm a. d. D. als Sohn des damaligen Apothekenbesitzers Heinrich Schwarz und seiner Ehefrau Berta geb. Curtius geboren. Staatsangehörigkeit Württemberg. Die ersten zwei Jahre meiner Schulzeit verbrachte ich am Gymnasium zu Ulm a. d. D. Im Juli 1910 zogen wir nach Stuttgart, und von da bis zum Abiturium, das ich Frühjahr 1921 ablegte, besuchte ich das Reform-Realgymnasium zu Stuttgart. Vom 1. April 1921 bis 1. April 1923 war ich Praktikant in der Engel-Apotheke zu Stuttgart. Nachdem ich mein pharmazeutisches Vorexamen abgelegt hatte, war ich vom 1. April bis 1. Oktober 1923 als Apothekenassistent in der Lilien-Apotheke in Hamburg und vom 1. Oktober 1923 bis 1. April 1924 in der Stadt-Apotheke zu Schwenningen a. N. — S.S. 1924 bis Ende S.S. 1926 studierte ich an der Universität zu München als ordentlicher Studierender der Pharmazie. Daselbst legte ich auch mein pharmazeutisches Staatsexamen ab. Nach meiner Verheiratung zog ich am 1. November 1926 nach Kiel und widmete mich dem Studium der Bakteriologie am Bakteriologischen Institut der Preußischen Forschungs- und Versuchsanstalt für Milchwirtschaft. S.S. 1927 war ich an der Universität Kiel immatrikuliert.

Meine Lehrer waren: in München: v. Göbel, Paul †, Sierp, Wieland, Willstätter, Wien †; in Kiel: Henneberg.